

L A C E L L U L E

LA CELLULE

RECUEIL

DE CYTOLOGIE ET D'HISTOLOGIE GÉNÉRALE

PUBLIÉ PAR

J. B. CARNOY, PROFESSEUR DE BOTANIQUE ET DE BIOLOGIE CELLULAIRE,

G. GILSON, PROFESSEUR DE ZOOLOGIE ET D'EMBRYOLOGIE,

A L'UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN

AVEC LA COLLABORATION DE LEURS ÉLÈVES ET DES SAVANTS ÉTRANGERS

TOME XIII

1^{er} FASCICULE.

I. Sur la graine et spécialement sur l'endosperme du *Ceratonia siliqua*.

Étude critique et chimique, par H. MARLIÈRE.

II. La fécondation chez l'*Ascaris megalocephala*,

par J. B. CARNOY et H. LEBRUN.

III. Les cinèses spermatogénétiques chez l'*Helix pomatia*,

par Arthur BOLLES LEE.

LIERRE

Typ. de JOSEPH VAN IN & C^{ie},
rue Droite, 48.

PARIS

G. CARRÉ & C. NAUD, ÉDITEURS,
rue Racine, 3.

1897



MÉMOIRE DE BOTANIQUE

PRÉSENTÉ AU CONCOURS DE 1896 POUR LA COLLATION DES BOURSES DE VOYAGE
ET AGRÉÉ PAR LE JURY.

Sur la Graine et spécialement sur l'Endosperme

DU

CERATONIA SILIQUA

ÉTUDE CYTOLOGIQUE ET CHIMIQUE

PAR

H. MARLIÈRE

DOCTEUR EN SCIENCES NATURELLES.

(Mémoire déposé le 30 juin 1896.)

SUR LA GRAINE ET SPÉCIALEMENT SUR L'ENDOSPERME

DU

CERATONIA SILIQUA.

INTRODUCTION.

L'endosperme du *Ceratonia siliqua*, vulgairement caroubier, plante ligneuse méridionale de la famille des légumineuses, est une véritable curiosité scientifique. Chaque année, depuis la fondation du cours de Biologie cellulaire à l'Université de Louvain, les étudiants des facultés de Médecine et des Sciences l'observent au microscope. Les membranes énormes, sans structure apparente, des cellules de ce tissu présentent, au point de vue biologique, une grande affinité avec la *substance fondamentale* du cartilage. C'est un objet classique, et presque tous les auteurs, lorsqu'ils traitent de la membrane cellulaire, se croient obligés de le citer. Personne cependant, à notre connaissance, n'en a fait une étude suffisamment approfondie.

En abordant le présent travail, nous n'avions qu'une idée : chercher si, par des méthodes appropriées, il ne serait pas possible de définir exactement, tant au point de vue chimique que dans ses particularités cytologiques, la nature de ces membranes singulières. L'histoire du *Ceratonia siliqua*, et elle est déjà longue, comme on le verra bientôt, nous laissait encore beaucoup à faire sur ce point.

Cette question, si exigüe en apparence, revêtira plus d'importance, si l'on songe que les substances mucilagineuses, dont il faudra nous occuper, sont encore peu connues en dépit des nombreux travaux qu'elles ont provoqués. Elles ont d'un objet naturel à l'autre des propriétés fort différentes,

mal caractérisées, et il semble que ces matières, si répandues dans le domaine de la botanique, résisteraient beaucoup moins aux investigations de la science, si l'on s'efforçait de les étudier minutieusement une à une, plutôt que de généraliser d'une manière trop hâtive. A cet édifice d'une synthèse dûment fondée sur les gommes et les mucilages, nous apportons notre pierre, si modeste et si peu façonnée qu'elle soit. Puisse-t-elle y trouver sa place!

En route, nous ne nous sommes pas borné à l'étude de la membrane de l'endosperme du *Ceratonia*. Allant du connu à l'inconnu, nous avons commencé cette analyse par la graine mûre, livrée au commerce avec son énorme gousse, tout imprégnée de saccharose. C'est en effet à ce stade que les auteurs empruntent généralement la description de l'endosperme du caroubier. Dès l'abord, nous fûmes intrigué par l'aspect du spermodermes, dont la structure cellulaire, à part l'assise épidermique, est entièrement méconnaissable avant l'emploi des réactifs. Personne, pensons-nous, ne s'est occupé de ce détail. Il y a donc ici une lacune, et nous avons l'espoir de la combler.

Enfin, en parcourant la littérature de notre sujet, nous nous sommes aperçu d'une double erreur commise par un botaniste fort connu, M. VAN TIEGHEM, à propos du contenu cellulaire de l'endosperme(1). Nous n'avons pas manqué de la relever, en dirigeant notre attention de ce côté.

Cet essai comprendra deux parties, l'une histologique et cytologique à la fois, l'autre chimique. Toutefois, cette division n'a pas été observée avec une rigueur absolue, ce qui serait de l'affectation et entraînerait dans l'exposé des recherches de fastidieuses redites.

Le côté historique de chaque question sera traité à mesure que l'occasion s'en présentera.

(1) PH. VAN TIEGHEM : *Traité de Botanique*, 2^e éd., Paris, 1891.

PREMIÈRE PARTIE.

La graine du Caroubier au double point de vue histologique et cytologique.

La FIG. 1 représente l'intérieur de la graine mûre, sectionnée transversalement à son grand axe, examinée à la loupe. Nous y trouvons dans leur ensemble les trois parties qui seront soumises à l'examen du microscope : le spermodermes, *s*, l'endosperme, *end*, et les cotylédons de l'embryon, *cc*. L'embryon tout entier, extrait de la graine, a fourni la FIG. 2, dessinée au même grossissement et réduite de moitié par le graveur.

Commençons par l'étude du spermodermes.

I. *Primine*. Le spermodermes est composé de deux téguments, dont le développement réalise le type anatrophe, FIG. 3. Cette forme est d'ailleurs constante dans la tribu des Césalpiniées, à laquelle appartient le caroubier.

La FIG. 4 donne, sous une forme réduite, l'aspect général des coupes transversales de la graine desséchée, vues dans le mélange à parties égales de glycérine et d'alcool absolu. Ce milieu pénètre les diverses parties des coupes sans y apporter la moindre modification, pourvu toutefois qu'on ne lui laisse pas le temps de se diluer au contact de l'air humide.

Pour conserver indéfiniment ces coupes dans leur aspect naturel, il est préférable d'employer l'acétate basique de plomb (extrait de saturne). Il suffit de mouiller les coupes une minute avec ce réactif et de les laver à l'eau. Les membranes mucilagineuses sont ainsi parfaitement fixées et ne se gonflent plus par l'eau.

Impossible de rien distinguer nettement dans le spermodermes, même avec les meilleurs grossissements, sauf l'épiderme en palissade et son énorme cuticule. Celle-ci, incolore ou légèrement grisâtre en coupes minces, est d'une constitution physique spéciale, sur laquelle il faudra revenir. Elle est séparée de l'épiderme par une ligne brillante bordée de chaque côté par une ligne plus sombre, *ll*. C'est la *ligne de lumière* (Lichtlinie) ou *ligne lumineuse*, signalée depuis longtemps par tous ceux qui ont étudié la graine des légumineuses.

D'après METTENIUS, HANSTEIN et RUSSOW, le tégument du fruit du *Marsilia* fournirait aussi une image du même genre (Cfr. SEMPOLOWSKI : Samenschale der Lineen, Papil. und Crucif., dans *Just's Botan. Jahresbericht*, 1874, p. 505). TSCHIRCH figure la ligne lumineuse plusieurs fois, notamment dans l'épiderme de la graine du *Pisum sativum*, de l'*Abrus precatorius*, du *Trigonella Fœnum-Graecum* (1). Il dit d'une manière générale que ce phénomène et autres semblables sont simplement des effets de réfringence produits à la limite de deux substances chimiquement et physiquement différentes. Remarquons d'abord, en passant, que nous n'avons pas vu se produire cette ligne chez l'*Abrus precatorius*, sur des coupes suffisamment minces.

Un autre auteur, bien antérieur à TSCHIRCH, SEMPOLOWSKI (2), avait tenté d'expliquer le fait en admettant une transformation chimique de la paroi cellulaire à la hauteur de la ligne de lumière. Suivant cette ligne, dit-il, par l'action de l'iode et de l'acide sulfurique, la membrane se teint en jaune, tandis que partout ailleurs elle se colore uniformément en bleu. Ce serait une erreur d'en juger ainsi dans le cas du *Ceratonia*. Ce qui prend la couleur jaune, ce n'est pas la ligne lumineuse, qui se trouve à l'intérieur de l'épiderme, mais le sommet des cellules en contact avec la cuticule, à cause de la substance cuticulaire moins rapidement dissoute en cet endroit par l'acide sulfurique. L'ensemble des membranes de l'épiderme se colore intensément en bleu avec une égale rapidité, si bien qu'on n'y voit plus trace de ligne lumineuse. Nous l'avons constaté en toute évidence.

L'opinion de RUSSOW, qui avait supposé une déshydratation plus complète de la membrane à l'endroit de la ligne de lumière, a été réfutée victorieusement par une série d'expériences de GÜNTHER BECK (3).

GODFRIN, en 1880, dit : « Avec les moyens d'observation dont nous disposons actuellement, nous ne pouvons que constater le fait de la ligne lumineuse, sans lui trouver aucune explication plausible (4). »

Plus récemment encore, MARCEL BRANDZA fait remarquer qu'en traitant les cellules avec du carmin ou de la teinture d'aniline, on voit, suivant la

(1) A. TSCHIRCH : *Angewandte Pflanzenanatomie*; Wien und Leipzig, 1889.

(2) SEMPOLOWSKI : *Beiträge zur Kenntniss des Baues der Samenschale*; Leipzig, 1874.

(3) G. BECK : *Vergl. Anat. der Samen von Vicia und Ervum*; Arb. des pflanzenphys. Institut K. K. Wiener Univ., B. LXXVII, 1878.

(4) JULIEN GODFRIN : *Étude histologique sur les téguments séminaux des Angiospermes*; Nancy, 1880, p. 35.

bande lumineuse, une coloration moins intense. D'où il conclut que cette diminution d'intensité doit certainement correspondre à un moindre épaissement (1).

Nous nous sommes livré à l'étude de ce phénomène sans nous laisser guider par ces différentes théories. Nous sommes parvenu à une explication toute différente.

La cause véritable de cette impression lumineuse réside, selon nous, dans la structure particulière des membranes secondaires de l'épiderme.

Vues en coupe tangentielle, perpendiculaire à leur grand axe, les cellules de l'épiderme ont une cavité irrégulière fort réduite projetant à travers les membranes secondaires des ponctuations ou fentes étroites, assez souvent ramifiées. Ces ponctuations pénètrent presque jusqu'à la membrane primaire, FIG. 5, B. Elles découpent ainsi le revêtement secondaire de la cellule en cannelures fortement accusées, généralement demi-cylindriques, adossées à la membrane primaire. De là provient l'aspect fibrillaire de ce même revêtement secondaire dans les coupes parallèles au grand axe des cellules en palissade. Mais ce qui devient très difficile à observer, c'est le mode suivant lequel ces colonnes vont se terminer au sommet de la cellule, contre la cuticule. Nous nous y sommes trompé pendant longtemps.

Il faut pour bien voir, examiner les parois cellulaires dans toutes les positions possibles, les dégager complètement par l'action peu prolongée de l'acide sulfurique de moyenne force, et les colorer ensuite par le bleu de méthylène ou tout autre colorant du même genre. Au niveau de la ligne de lumière, les cannelures de la membrane secondaire portent un gros point d'épaississement, par lequel elles se rejoignent presque les unes les autres; au-dessus, elles reprennent leurs dimensions ordinaires, s'infléchissent légèrement et vont se rencontrer au centre de la voûte de la cellule, FIG. 5, C et FIG. 6. Ces épaississements brusques de la membrane, qui encombrant la cavité cellulaire, constituent, pour la lumière, en cet endroit, un milieu presque homogène, fortement réfringent, tandis que de part et d'autre de cette ligne, les accidents profonds des parois font subir aux rayons lumineux de multiples réflexions aux dépens de leur intensité. Telle est, nous semble-t-il, l'explication de la ligne de lumière.

(1) M. BRANDZA : *Développement des téguments de la graine*; Revue génér. de Botanique, 1891, p. 18.

D'autres faits confirment notre idée : en examinant sur champ noir une coupe de l'épiderme, on s'aperçoit qu'une raie sombre a pris la place de la ligne lumineuse. Quand on fait agir sur les membranes un colorant vif, par ex. le bleu de méthylène ou le rouge Congo ou le rouge de ruthénium, la ligne lumineuse est remplacée par un trait fortement coloré qui indique l'endroit où les membranes sont plus épaissies. De plus, si on se livre à une étude comparée de ce phénomène, paraissant dans des conditions semblables, on constate que le plus souvent il est connexe à une modification anatomique locale de la membrane cellulaire. Ainsi va-t-il dans l'épiderme en palissade de la graine de *Trigonella Fœnum-Graecum*, de *Tamarindus indica*, de *Physostigma venenosum*, de *Lupinus termis*, de *Dolichos lubia* et *sesquipedalis*, de *Cassia fistulosa*, de *Cæsalpinia coriaria* et d'autres graines encore que nous avons examinées(1). La ligne de lumière est plus ou moins intense, plus ou moins large, selon que les détails de la membrane qui la produisent sont plus ou moins accentués. Si ces différenciations de la membrane manquent, la ligne de lumière fait aussi défaut (*Abrus precatorius*, *Myristica odorata*).

(1) On sait que cette forme en palissade des cellules du tissu épidermique est fréquente dans les graines, surtout chez les légumineuses, où ces cellules atteignent parfois des dimensions considérables. Dans plusieurs genres de cette famille, la cuticule est également fort développée. Voici quelques chiffres qui appuieront cette remarque. Les dimensions ont été relevées sur les graines mûres.

ÉPIDERME SEUL

	LONGUEUR	LARGEUR	CUTICULE
<i>Cerantonia siliqua</i>	110—130—150 μ	10—16 μ	30—36 μ
<i>Cassia fistulosa</i>	70—84	7—10	20—24
<i>Caesalpinia coriaria</i>	90—100	8—12	24—28
(<i>Hibiscus esculentus</i>) (Malv.)	200—220	8—12	20—22
<i>Trigonella F. G.</i>	60—70	14—20	12—14
<i>Tamarindus indica</i>	150—170	4—8	7—8
<i>Physostigma venenosum</i>	280—340	20—24	4
<i>Lupinus termis</i>	90—110	12—16	4—6
<i>Dolichos sesquipedalis</i>	50—60	12—16	3
» <i>lubia</i>	30—40	8—12	2
<i>Abrus precatorius</i>	156—170	12—16	nulle ou presque nulle
<i>Cajanus indicus</i>	76—90	8—12	0
<i>Vicia sativa</i>	110—120	16—20	2
<i>Vicia lens</i>	24—28	3—4	0
<i>Phascolus vulgaris</i> (variété rouge)	45—50	12—16	0
» » (var. blanche d'Égypte)	65—70	10—12	0
<i>Pisum sativum</i>	80—90	12—16	0

C'est le *Myristica odorata* qui tient le premier rang. Ses cellules en palissade peuvent atteindre jusqu'à 800—850 μ en longueur sur 20—30 μ en largeur.

La membrane de l'assise épidermique ne s'épaissit qu'à la maturité de la graine. Alors même que celle-ci a déjà atteint sa longueur définitive (10 à 12 mm.), on peut encore constater, sur des cellules en palissade de plus de 100 μ de longueur, que la membrane est restée mince et que la ligne lumineuse n'a pas encore apparu. La cuticule s'accroît aussi beaucoup dans la dernière période du développement de la graine. Tant que celle-ci est jeune, on voit parfaitement se continuer à travers la cuticule les limites cellulaires de l'épiderme; à une époque plus avancée, on y distingue aussi un certain nombre de couches tangentielles d'épaississement, FIG. 7, c. Mais à la maturité, ces détails cessent d'être visibles; il n'y a plus dans ce revêtement uniforme de la graine que des éraillures, provoquées çà et là par la dessiccation et peut-être aussi par le rasoir.

En dessous de l'épiderme, nous rencontrons une couche de cellules spéciales, les *cellules de soutien* (*Trägerzellen*) que TSCHIRCH préfère appeler *ostéosclérides*, à cause de leur forme, assez variable du reste d'un sujet à l'autre. CHALON (1), dans son travail sur la graine des légumineuses, donne à ces éléments le nom de *cellules en sablier*, assez usité en France. L'expression nous semble assez bien choisie pour le *Ceratonia* et bon nombre d'autres graines, mais n'a pas le moindre rapport avec la chose signifiée chez d'autres légumineuses, par ex. chez le *Trigonella Farnum-Graecum*. Mieux vaut donc s'en tenir à la première dénomination.

Ces cellules sont dessinées en sc, e, FIG. 6, telles qu'elles paraissent à la maturité, sous l'influence de l'eau de javelle ou de la potasse caustique diluée. Parmi les différentes graines que nous avons passées en revue, celles de *Cassia coriaria* et de *Cassia fistulosa* seulement nous ont offert des images identiques. Ces deux espèces sont d'ailleurs très voisines du caroubier. L'aspect de la cellule est celui d'un cylindre fortement dilaté à sa base, beaucoup moins au sommet. Il en résulte que les cellules, en contact les unes avec les autres à leur base, s'écartent en leur milieu, en formant des méats, pour se rapprocher et souvent se rejoindre latéralement à leur partie supérieure. L'épaississement des membranes est irrégulier; faible aux deux extrémités de la cellule, il dessine sur les parois latérales un double croissant sillonné par les nombreuses lamelles secondaires qui viennent le revêtir successivement. C'est une des mille manières que la nature adopte pour résoudre ce problème d'architecture : donner aux cellules de

(1) J. CHALON : *La graine des légumineuses*; Mons, 1875.

soutien une grande force de résistance avec la moindre quantité de matière possible. On comprend aisément qu'avec la forme spéciale des cellules de soutien que l'on voit ici, la solidité des parois supérieure et profonde importe peu; aussi l'épaississement secondaire y fait-il presque entièrement défaut (1).

Comme pour l'épiderme, la période de formation des membranes secondaires dans cette assise de cellules ne commence qu'aux abords de la maturité. Dans la graine toute jeune, on n'aperçoit sous l'épiderme que des éléments cellulaires polyédriques, serrés les uns contre les autres, sans méats, peu distincts du parenchyme sous-jacent, FIG. 8, *sc*. Plus tard, ils prennent un léger accroissement dans le sens radial; puis leurs extrémités s'élargissent, tandis que sur les côtés apparaissent les méats signalés plus haut, FIG. 7, *sc, e*. Mais jusqu'au moment où elles ont acquis leurs dimensions extérieures définitives, les membranes restent uniformément minces; les couches n'y apparaissent qu'à l'époque du plus grand développement de la cuticule épidermique.

Pénétrons encore plus avant dans la graine. Nous rencontrons la troisième couche de la primine, un parenchyme formé de cellules presque isodiamétrales à l'origine, FIG. 3, progressivement aplaties parallèlement à la surface de la graine; du funicule à la chalaze, il est parcouru par un faisceau vasculaire, *fr*, FIG. 3, non ramifié, sauf dans la chalaze où il se divise en plusieurs branches. On y reconnaît de suite la structure propre aux faisceaux vasculaires des feuilles. Rappelons-nous que dans les angiospermes le tégument, qui représente le limbe d'une foliole de la feuille carpellaire, tourne toujours sa face supérieure du côté de l'ovule. C'est donc aussi de ce côté que nous trouvons l'hadrome du faisceau, en cordon serré de vaisseaux spirales. Il est surmonté à l'extérieur d'un arc de leptome traversé par sept ou huit petits massifs de stéréome, FIG. 9, reconnaissables, sur les coupes transversales de jeunes graines, par l'épaisseur des parois et l'intensité de leur coloration, après l'emploi du rouge Congo, du bleu de méthylène, du vert de méthyle, etc.

A la maturité, le faisceau vasculaire est imprégné plus abondamment que le parenchyme environnant d'une matière colorante jaune, localisée dans la cavité des cellules, que nous avons rattachée au groupe des tannins, FIG. 11, *t*. Nous y reviendrons plus tard. La membrane des éléments du parenchyme s'épaissit fort peu, sauf dans le voisinage du faisceau vasculaire

(1) Cfr. TSCHIRCH : *Beiträge zur Kenntniss des mech. Gewebesystems*; Pringsheim's Jahrb., B. XVI, p. 312.

et du micropyle, à la maturité, où les cellules prennent l'aspect des scléréides à couches d'épaississement nombreuses, perforées de fins canalicules, FIG. 11, *t*. Nous n'avons pu malheureusement surveiller d'assez près le travail de l'artiste graveur, qui n'a pas saisi exactement le tracé de ces couches d'épaississement.

Cette troisième couche du tégument externe est très fournie dans la jeune graine. On y compte au moins douze à quatorze rangées de cellules. Alors que la graine mesure à peine 2 mm. de longueur sur 1 mm. 2/10 d'épaisseur moyenne, le parenchyme a une épaisseur de 80 μ environ, soit le 1/7 du rayon de la graine. Plus tard, quand la graine, entièrement développée, mesure 3 mm. 5/10 suivant son plus petit diamètre, le parenchyme, malgré l'accroissement de ses cellules, est réduit à une épaisseur de 70 μ seulement. On peut ainsi se faire une idée de l'aplatissement que subit ce tissu par l'effet de la pression énorme de l'endosperme et des cotylédons, combinée avec la résistance de l'armure externe.

Le premier tégument de la graine se termine à l'intérieur par une assise cellulaire identique à la couche des *cellules de soutien*, mais présentant une disposition renversée, *sc, i*, FIG. 4 et 6. La similitude est parfaite à toutes les étapes du développement qu'il nous a été possible d'observer. Toute la différence git dans la dimension des éléments, qui est ici moindre que dans l'assise sous-épidermique. Cette expression de *cellules de soutien* ou *scléréides internes* rappellera cette analogie, qui nous dispense d'une nouvelle description. Cette différenciation de l'assise cellulaire qui limite intérieurement la primine est loin d'être générale chez les légumineuses. Parmi les nombreuses graines de cette famille que nous avons examinées, celles des *Cassia* seulement possèdent, comme le caroubier, des scléréides internes. C'est encore un des traits de ressemblance de ces deux genres.

II. *Secondine*. A propos de la secondine, nous avons plusieurs remarques à noter.

¹⁰ La première concerne le nombre d'assises cellulaires qu'elle renferme. Pour autant qu'il nous a été permis d'en juger, car nous n'avons pu disposer de matériaux assez jeunes pour assister à la naissance de ce tégument (1), il faut l'interpréter comme n'étant formée essentiellement

(1) Nous tenons les fruits en voie de développement dont nous nous sommes servi de l'obligeance de notre maître Monsieur le chanoine CARNOY, professeur de Botanique à l'Université catholique, qui les avait fait recueillir par M. CAUCHIE, professeur d'histoire aux facultés de Philosophie et de Théologie de Louvain, aux environs de Naples, lors de son dernier voyage scientifique en Italie. Nous sommes heureux de lui en exprimer nos remerciements.

que d'une seule couche de cellules, dédoublée çà et là, aux points de moindre pression, par division tangentielle, et même augmentée en certains endroits d'une troisième rangée, *ti*, fig. 8 et 9. Ces différents nombres s'observent en effet avec la plus grande facilité, déjà dans les graines qui ont 2 mm. de longueur à peine. Il serait d'ailleurs difficile, comme on le verra par la suite, de faire intervenir la résorption, pour expliquer les variations que nous signalons ici. On pourrait rapprocher ce cas de celui que cite GUIGNARD, aussi dans la famille des légumineuses, pour un genre très voisin du *Ceratonia*, le *Cercis siliquastrum*. La secondine, seulement du côté externe, opposé au funicule, s'y dédouble en quatre ou cinq assises cellulaires dans toute sa longueur⁽¹⁾. Dans la graine que nous avons étudiée, cette multiplication s'opère en des points divers, plus ou moins étendus, sans orientation déterminée.

Les cellules de la secondine sont généralement tabulaires, aplaties tangentiellement; elles présentent un aspect identique en coupe longitudinale et en coupe transversale. Quand leur dédoublement s'opère dans un espace très restreint, les cellules externes sont souvent notablement plus allongées que les internes.

2^o Ce serait ici la place de certaines corrections à faire aux travaux de plusieurs auteurs qui se sont occupés des téguments séminaux, en particulier chez les légumineuses.

En 1872, LE MONNIER conclut de ses *Recherches sur la nervation de la Graine*⁽²⁾ : - Sauf le cas des euphorbiacées, qui doit être complètement mis à part, je n'ai point rencontré de graines où la présence de la secondine fut évidente à la maturité. -

GODFRIN, de son côté, cherche à établir des lois générales sur la durée des téguments; nous y trouvons ceci : - Dans les téguments séminaux à deux ou trois couches, c'est-à-dire dans la plupart des cas, la secondine et le nucelle ont complètement disparu à maturité⁽³⁾. -

Les légumineuses rentrent, d'après lui, dans cette règle.

BRANDZA aboutit à des conclusions générales différentes, mais pour les légumineuses, il admet aussi qu'il y a résorption constante du tégument interne de l'ovule⁽⁴⁾.

(1) GUIGNARD : *Embryogénie des Légumineuses*, Ann. des sc. nat., sixième série, Botanique, XII, 1891, pag. 43, et pl. II, fig. 50, avec légende explicative.

(2) Ann. des sc. natur., 5^e série, t. X I, 1872.

(3) J. GODFRIN : Ouv. cité, p. 107.

(4) M. BRANDZA : Ouv. cité, p. 20

VAN TIEGHEM ajoute aux euphorbiacées, dont LE MONNIER avait fait une exception, les familles des rosacées et des rutacées. Pour le reste, il ne dit rien de plus que cet auteur (1).

Nous ne sommes pas en mesure de contrôler dans leur ensemble les aperçus synthétiques que nous venons de citer. Ce sont des généralisations basées sur des travaux assez étendus, et à ce titre elles méritent une sérieuse considération. Mais comme ces botanistes n'ont pas examiné toutes les espèces, ni même tous les genres des familles qu'ils énumèrent, et comme aucun d'eux, à part BRANDZA pour un certain nombre de cas, n'a pas tenu assez compte des diverses phases d'évolution de la graine, on est en droit, en face d'une espèce non décrite, de se tenir en défiance à l'égard de ces résultats, à notre avis trop généraux. Nous avons retrouvé, sur toutes nos graines de caroubier, le tégument interne toujours accompagné d'au moins deux couches de cellules appartenant à l'ovule. En aucun point, ni la secondine ni le tissu ovulaire ne sont entièrement résorbés à la maturité. Sur les coupes faites à travers la graine mûre, on voit, à la limite de la carapace et de l'endosperme, un liseré mince tranchant vivement sur tout le reste par sa couleur d'un beau jaune foncé. A cause de son apparente homogénéité de structure, qui oppose une résistance extraordinaire aux agents chimiques, on prendrait tout naturellement cette bande pour la cuticule des scléréides internes, sans soupçonner sa vraie nature cellulaire. Mais si l'on fait des coupes longitudinales dans le voisinage du micropyle, on sera mieux renseigné. Aux abords de cette ouverture, la bande jaune s'épaissit sur un parcours assez restreint, et va se terminer dans le canal micropylien par deux bourrelets caractéristiques, les deux lèvres de la secondine. Quel que soit l'aplatissement de ce tissu, nul doute n'est plus possible sur sa signification histologique.

Il reste à mettre en évidence les cellules dont il se compose, FIG. 6, s. Ce n'est pas chose facile. En laissant agir successivement la potasse caustique de 10 à 50 0/0 et l'eau de javelle pendant longtemps, et en examinant avec soin, on trouve çà et là que la secondine n'a que l'épaisseur d'une seule couche de cellules, ailleurs il y en a deux, rarement trois (2). Somme toute,

(1) PH. VAN TIEGHEM : *Traité de Botanique*, p. 924, 1891.

(2) Il y a un moyen plus rapide de délimiter les cellules de la secondine, c'est de suivre au microscope l'action sur les coupes de l'acide sulfurique concentré. Les cellules du second tégument se vident rapidement de la matière colorante brune qu'elles renferment mais leur membrane résiste plus longtemps à la destruction. Les préparations ainsi traitées ne se prêtent pas à la conservation. L'acide chlorhydrique agit moins vite, mais il a l'avantage de gonfler les membranes sans les détruire, comme le fait l'acide sulfurique.

la composition du second tégument est restée la même que dans le principe. C'est pour ce fait que plus haut nous nous déclarions peu disposé à invoquer la résorption partielle de la secondine pour expliquer les variations du nombre de couches qu'on y rencontre. S'il y a résorption déjà dans la graine toute jeune, alors que l'endosperme ne fait que paraître, comment admettre qu'elle ne se continue pas et n'aboutisse pas à la disparition complète du second tégument, par l'effet de l'accroissement et de l'énorme pression de l'endosperme en voie de maturité?

Passons maintenant du spermodermes aux parties internes de la graine.

Tissu ovulaire et endosperme.

I. *Tissu ovulaire.* L'ovule, avons-nous dit, ne disparaît jamais complètement chez le caroubier. En effet, sous la secondine que nous venons d'étudier, il y a une couche de substance blanche, également homogène, si l'on ne fait usage des réactifs. Mais dès qu'on fait passer la potasse caustique, l'eau de javelle, ou l'iode et l'acide sulfurique sur la préparation, cette homogénéité disparaît et l'on se trouve en face d'un tissu à parois celluloses écrasées, comme le parenchyme du tégument externe. C'est ce qui reste de l'ovule. La FIG. 8 montre en *eo* l'aspect des deux couches externes de l'ovule jeune. C'est l'épiderme dédoublé de cet organe. Les cellules sont étroites, allongées radialement en coupe transversale, plus développées encore dans la direction longitudinale, sans méats. Rien de plus facile que de les distinguer du tissu sous-jacent, dont les cellules isodiamétrales ont un tout autre aspect. A défaut même d'une vue de la graine en coupe longitudinale passant par le micropyle, FIG. 3, *eo*, l'absence complète d'adhérence de ces deux assises au tégument en coupe transversale suffirait pour les isoler de la secondine et déterminer nettement leur origine ovulaire. Or, toujours et partout, dans la graine mûre, quand la forme des cellules est suffisamment régénérée par les réactifs indiqués plus haut, on reconnaît la présence de ces deux couches entre la secondine et l'endosperme, tandis que le reste de l'ovule primitif disparaît complètement ou du moins ne laisse plus que des traces insignifiantes, FIG. 6, *rn*.

Ainsi se trouve suffisamment justifiée notre affirmation, contraire à celle des auteurs cités en dernier lieu, sur la persistance à la maturité de la secondine et d'une partie de l'ovule, dans une espèce au moins de la famille des légumineuses. Ce n'est pas la seule exception; l'*Abrus precatorius* et le

Cassia fistulosa sont, d'après nos recherches, certainement aussi dans le même cas, et nous ne doutons pas qu'on puisse en trouver d'autres encore (1).

II. *Endosperme*. L'endosperme du *Ceratonia* se présente dans la graine mûre sous la forme de deux lames disposées de part et d'autre des cotylédons. *end*, FIG. 1, réunies par une mince couche du côté de la chalaze et se terminant librement aux abords du micropyle. La première assise de cellules de cet organe est formée d'éléments prismatiques, serrés les uns contre les autres, à parois régulières, relativement peu épaissies, FIG. 10 et FIG. 4, *a*, *p*. Cette assise peut dans certaines graines s'infléchir trois ou quatre fois vers l'intérieur et former ainsi autant de lignes à peu près parallèles à l'axe embryonnaire qui divisent l'endosperme en plusieurs lobes. Ces lignes de séparation se voient très bien à l'œil nu, sur des endospermes entiers qui ont séjourné longtemps dans l'eau. Mais ce trait de conformation n'a aucune importance, attendu qu'il peut faire défaut. La première couche de cellules que nous venons de décrire se distingue généralement dans les graines par son contenu spécial. C'est l'assise à *gluten* ou *protéique* (Kleberschicht). Nous lui conserverons ce nom, quoique, ici, les substances renfermées dans la cellule soient les mêmes que dans le reste de l'endosperme.

Immédiatement en dessous de l'assise protéique apparaissent les cellules à cavité irrégulière, sinueuse, étoilée, dont les dimensions, ainsi que celles des épaisses membranes mucilagineuses qui les séparent, s'accroissent des bords au centre de l'endosperme. La portion que ces cellules occupent dans la graine est considérable, ou plutôt c'est tout l'endosperme. Il ne reste contre les cotylédons qu'une bande mince de cellules parenchymateuses, écrasées, dont il sera question plus loin.

Cette description sommaire de l'endosperme suffit pour le moment. Occupons-nous de suite de la membrane.

Etat de la question. A l'étude de la membrane cellulaire de l'endosperme du *Ceratonia siliqua* se rattache une théorie autrefois vivement controversée, et dont les tenants se font aujourd'hui de plus en plus rares. Nous voulons parler de la théorie de la *substance intercellulaire*. L'expression est de

(1) Voir L. GUIGNARD : *Recherches sur le développement de la graine et en particulier du tégument séminal*; Journal de Botanique, 1893.

HUGO VON MOHL⁽¹⁾ et désigne dans sa pensée une masse dans laquelle sont plongées les cellules, et qui enchaîne leurs parois les unes aux autres en filaments ou en tissus. Il croyait d'abord que les cellules se formaient à l'intérieur et aux dépens de cette substance. Plus tard, il modifia ses vues au point de publier que la substance intercellulaire est un produit de sécrétion des cellules⁽²⁾. Ces idées trouvèrent de suite un adversaire dans MEYEN⁽³⁾. Cet auteur montre qu'il ne peut être question d'un ciment reliant les cellules, et qu'en particulier dans le collenchyme des jeunes tiges de la plupart des dicotylédones, les masses localisées aux angles des cellules sont formées, non par la prétendue substance intercellulaire, mais par des épaissements secondaires des membranes à l'intérieur de la cellule. Cependant UNGER⁽⁴⁾, SCHLEIDEN⁽⁵⁾, TH. HARTIG⁽⁶⁾ admirent encore comme VON MOHL une substance intercellulaire sécrétée par les cellules.

En 1850, WIGAND⁽⁷⁾ publia une étude exclusivement consacrée à la substance intercellulaire et à la cuticule. A l'encontre de ses devanciers, il déclare expressément, en se basant sur ses nombreuses recherches et sur des considérations théoriques diverses : - Il n'y a pas de substance intercellulaire, soit autonome, soit sécrétée par les cellules. - Voici les lois qu'il déduit de la première partie de son ouvrage :

- 1^o La cellule végétale est le seul élément de structure du corps de la plante; la substance intercellulaire et la cuticule, qu'on considérerait jusqu'aujourd'hui comme exceptions, rentrent dans cette règle.

- 2^o Il faut étendre à la cuticule et à la substance intercellulaire l'aphorisme de VON MOHL : que la cellulose est la matière chimique fondamentale de toutes les membranes végétales.

- 3^o La croissance de la paroi cellulaire végétale a toujours lieu de dehors en dedans.

- 4^o Jusqu'aujourd'hui, aucun exemple ne montre le pouvoir des cellules de sécréter au dehors des substances homogènes à leur propre membrane⁽⁸⁾.

1) H. VON MOHL : *Ueber die Verbindung der Zellen unter einander*; Dissert., 1835, réimprimée dans une réponse à MIRBEL : *Erläuterung und Vertheidigung meiner Ansicht von der Pflanzen-substanz*; Tübingen, 1836.

(2) H. VON MOHL : *Grundzüge der Anat. und Physiol. der veget. Zelle*, 1851.

(3) MEYEN : *Pflanzenphysiologie*, B. 1, p. 160 et ss. Berlin, 1837.

(4) UNGER : *Grundzüge der Anat. und Phys. der Pflanze*, p. 10 et 18, Wien, 1846.

(5) M. J. SCHLEIDEN : *Grundz. der wissensch. Bot.*, 3^e Aufl., B. 1, p. 328-29, Leipzig, 1849.

(6) TH. HARTIG : *Das Leben der Pflanzenzelle*, p. 39, Berlin, 1844.

(7) A. WIGAND : *Intercellularsubstanz und Cuticula. Eine Untersuchung über das Wachstum und die Metamorphose der vegetabilischen Zellenmembran*, p. 35, Braunschweig, 1850.

(8) P. 81.

L'ouvrage de WIGAND ne resta pas sans réponse. Deux ans plus tard, HERMANN SCHACHT (1) affirme à nouveau l'existence de la substance intercellulaire, produit de sécrétion des cellules, essentiellement différente, au point de vue chimique, de la cellulose. Toute son argumentation se base sur les réactions chimiques de la mince lamelle de matière pectique qu'on trouve généralement dans les tissus végétaux entre deux membranes cellulaires accolées. Il fait remarquer avec raison qu'on ne peut attribuer d'une manière absolue, comme le fait WIGAND, la présence de cette lamelle à une transformation de la cellulose, car elle apparaît déjà, avec ses propriétés caractéristiques, dans la cloison qui sépare en deux les cellules au moment de leur division. Au point de vue purement anatomique, la substance intercellulaire se fait reconnaître par l'absence de stratification; les membranes au contraire, quand elles sont épaissies, sont toujours constituées de plusieurs couches superposées (p. 83). Nulle part, la substance intercellulaire n'est moins développée que dans l'albumen de certains palmiers et des légumineuses : - Quand on abandonne pendant deux heures à l'action de l'alcali caustique (KOH) à froid des coupes très minces pratiquées à travers l'endosperme du *Ceratonia siliqua*, la ligne de séparation des cellules apparaît nettement. PL. VII, FIG. 5. Ce que UNGER avait ici désigné comme substance intercellulaire n'est que la masse d'épaississement des membranes cellulaires - (p. 85). Nous montrerons bientôt l'exactitude de cette observation, qui, cependant, a besoin d'être complétée.

Le vif débat suscité par cette question de la substance intercellulaire fit faire un grand pas à l'étude de la membrane. A mesure que les observations se multipliaient et se précisaient, la substance intercellulaire perdait de son importance aux yeux de ses partisans, et cédait le pas à la théorie de l'épaississement secondaire des membranes cellulaires.

Aussi les travaux postérieurs à ceux de WIGAND et de SCHACHT n'ont-ils plus le même intérêt. De part et d'autre, on ne fait plus que répéter les arguments développés par ces auteurs. Un point seul reste encore en litige : à savoir si la lamelle moyenne (Mittellamelle, terme nouveau qu'on a substitué à celui de membrane cellulaire) est oui ou non un produit de sécrétion de la cellule.

Nous sommes aujourd'hui mieux édifiés sur cette question. Les beaux

(1) H. SCHACHT : *Die Pflanzenzelle, der innere Bau und das Leben der Gewächse*, Berlin, 1852, p. 74 et ss.

travaux de MANGIN (1) ont démontré que, dans la plaque mitoyenne qui sépare les cellules lors de leur multiplication, il y a une partie centrale, une lame interne, constituée par des pectates gélatinisables et solubles déjà dans l'eau bouillante et les alcalis. L'origine de cette plaque est donc *intracellulaire*, puisqu'elle est produite par l'activité de la cellule-mère, dans son intérieur. Que les cellules, par l'effet de la pression hydrostatique interne, arrondissent leurs contours, la lamelle moyenne se clive plus ou moins profondément, et les méats apparaissent. Ceux-ci peuvent se remplir de productions diverses, exsudées à travers les pores des membranes, ou formées sur place par transformation chimique des membranes. On peut donc avec assurance rejeter l'hypothèse d'un revêtement protoplasmique intercellulaire, émise par RUSSOW (2), BERTHOLD (3) et TERLETSKI (4). Au reste, M. SCHENK s'était chargé déjà de faire bonne justice de cette singulière opinion (5).

De même l'expression de *substance intercellulaire* perd toute signification, ou plutôt elle est de nature à introduire une confusion déplorable dans la doctrine de la genèse des tissus. Mieux vaudrait donc l'abandonner complètement.

OBSERVATIONS PERSONNELLES. Nous allons avoir l'occasion de montrer que la substance intercellulaire, pas plus qu'ailleurs, n'existe dans le *Ceratonia*. SCHACHT, en 1852, avait déjà vu la mince lamelle moyenne qui, à certains endroits, subsiste encore à la maturité dans l'endosperme du caroubier; nous avons signalé plus haut cette observation, dont l'auteur donne une figure avec légende explicative à la Pl. VII de son ouvrage (6).

Malheureusement, SCHACHT a réuni dans son dessin et a confondu avec l'endosperme véritable les restes de l'ovule écrasés contre le spermodermis, qui s'en détachent très souvent dans les coupes et paraissent faire corps commun avec l'endosperme. Cette erreur ressort à l'évidence de la description qu'on trouve à la p. 170 de l'auteur. Ce qu'il appelle substance inter-

(1) L. MANGIN : *Étude historique et critique sur la présence des composés pectiques dans les tissus des végétaux*; Journal de Botanique, 1891-92-93.

(2) RUSSOW : *Ueber die Auskleidung der Intercellularen*; Sitzgsber. d. Dorpat. Naturf. Gesellsch., 1884, Heft 1, p. 15.

(3) BERTHOLD : *Ueber das Vorkommen von Protoplasma in Intercellularraumen*; Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellsch., B. II, 1884, p. 20.

(4) P. TERLETSKI : *Ueber den Zusammenhang des Protop. benachbarter Zellen und über das Vorkommen von Protopl. in Zwischenzellräumen*; Ibid., p. 169.

(5) H. SCHENK : *Ueber die Auskleidung der Intercellulargänge*; Ibid., 1885, p. 217.

(6) H. SCHACHT : Ouv. cité, pp. 22, 25, 85, 170 et 171.

cellulaire, c'est-à-dire pour nous la membrane primaire, n'est jamais, en faisant usage des méthodes qu'il indique, visible aussi complètement, ni sur un aussi grand espace, au bord externe de l'albumen. C'est à peine si, lorsqu'on a dépassé la première rangée de cellules de l'endosperme, l'assise protéique (GUIGNARD) ou *Kleberschicht* des auteurs, on rencontre encore çà et là quelque lambeau de la membrane primaire. Malgré SCHACHT, la conviction n'était pas faite sur le développement en épaisseur très restreint de cette membrane primaire, et aujourd'hui encore, M. VAN TIEGHEM affirme que, dans le *Ceratonia*, la séparation des cellules est due à la - gélification de la *lame moyenne*, ordinairement devenue très épaisse(1) -. Il fallait donc refaire, corriger et compléter les expériences du savant botaniste allemand. Il nous a coûté beaucoup de peine et de temps pour vaincre les difficultés et parvenir à des résultats vraiment probants.

Le seul moyen de prouver que la membrane primaire n'intervient que pour une quantité très minime dans la constitution de l'appareil mucilagineux de l'endosperme, c'est de mettre en relief les couches d'épaississement secondaire dont il se compose. Aucune des méthodes employées généralement pour l'étude des membranes ne nous a réussi, quand nous traitions des graines mûres. Pas plus en faisant varier l'indice de réfraction du milieu sous le couvre-objets (eau, alcools éthylique et méthylique étendus, glycérine gélatinée, huile, baume de Canada, etc.) qu'en faisant gonfler les membranes par la glycérine, le chloral, la potasse ou l'acide sulfurique, le chlorure de zinc, etc., on ne peut obtenir une succession de couches nettement limitées. Enfin, aucune matière colorante n'a pris sur les membranes, sauf sur la membrane tertiaire, dont nous ne nous occupons pas pour le moment.

Les résultats négatifs, dont nous sommes loin d'avoir épuisé la liste, cessent d'étonner quand on connaît la nature chimique des membranes de l'endosperme. Il faut faire appel ici à des manipulations spéciales. FRANK(2) conseille de déposer d'abord les coupes dans l'eau et d'arrêter le gonflement des membranes mucilagineuses, dès qu'il se produit, par l'afflux de l'alcool ou de la glycérine sur la préparation. Ce moyen réussit sur les coupes de graines de lin, dont parle l'auteur, mais pas dans le cas présent.

(1) VAN TIEGHEM : Ouv. cité, 2^e éd., p. 587.

(2) FRANK : *Ueber die anatom. Bedeutung und die Entstehung der vegetab. Schleime*; Pringsheim's Jahrbücher, B. V, p. 100 et ss.

NADELMANN (1), qui a fait une étude chimique et microscopique d'une cinquantaine de graines endospermées de la famille des légumineuses, dit à propos du *Ceratonia* que la stratification des membranes mucilagineuses y apparaît nettement par la réaction de l'iode et de l'acide sulfurique. Nous n'oserions être aussi affirmatif. Il est bien vrai que la solution aqueuse d'iode ou d'iodure de potassium iodé, comme la plupart des solutions aqueuses, gonfle très fortement le mucilage de l'endosperme et y fait apparaître à l'instant des lignes nombreuses plus ou moins parallèles, courant surtout de l'extérieur vers l'intérieur de la graine. Mais faut-il envisager ces stries comme des membranes secondaires véritables? Rien ne paraît moins probable. En effet, lorsqu'on dépose à sec sur le grand verre une coupe très mince de l'endosperme mûr et qu'on la met en contact avec une goutte du réactif, les dimensions de la coupe s'accroissent subitement, dans la direction indiquée, jusqu'au double parfois de ce qu'elle était primitivement. Faites subir un pareil allongement à un morceau de pâte ou de gomme, de suite vous verrez se produire sur l'objet des raies parallèles, dans le sens de l'allongement. Direz-vous après cela que vous avez observé les membranes secondaires de votre morceau de pâte ou de gomme?

Une autre particularité aurait dû mettre en garde contre cette interprétation. Les prétendues membranes secondaires naissent un peu au hasard dans la masse mucilagineuse, côtoient parfois trois ou quatre cellules et même plus, sans s'y arrêter, et si par aventure elles rencontrent un lambeau de membrane primaire, elles ne s'y terminent pas, mais continuent leur parcours par delà, sans aucune solution de continuité visible (voir FIG. 12, 1). De tels caractères, pour qui connaît tant soit peu de cytologie, ne peuvent convenir aux membranes secondaires.

Quant à l'acide sulfurique qu'on fait succéder à la solution iodée, il ne fait pas davantage ressortir les membranes secondaires. Dès qu'il atteint les cellules, les stries se gonflent et se confondent, les masses mucilagineuses se colorent en jaune sombre, deviennent plus granuleuses et se creusent rapidement, si bien qu'au bout de quelques instants on n'en voit plus que des débris contre la membrane tertiaire. Celle-ci, qui est formée de cellulose, s'est entrettemps colorée en bleu par l'action combinée de l'acide et de l'iode. De la membrane primaire, on ne voit bientôt plus de trace. Cette expérience

(1) H. NADELMANN : *Ueber die Schleimendosp. der Legum.*; Pringsheim's Jahrbücher, B. XXI, p. 609-690, 1840.

a été répétée plus de vingt fois sur la graine mûre, en variant la concentration de l'acide; les résultats ont toujours concordé, excepté pour la coloration de la substance mucilagineuse et de la cellulose; ce dernier détail ne réussit bien qu'avec l'acide sulfurique concentré aux $2/3$.

Dans ces mêmes préparations, pendant que s'opère la dissolution du mucilage, on voit en maints endroits, sur le pourtour extérieur de la membrane cellulosique, de nombreuses fibrilles transversales que NADELMANN a confondues avec des crevasses (schwache Risse, p. 658) de cette membrane, produites, selon lui, par l'étirement. Nous nous bornerons à prendre note du fait pour le moment.

NADELMANN n'a jamais pu conserver dans son entier la membrane primaire. Nous avons été plus heureux. Sur la face de l'endosperme qui touche à l'embryon, subsistent à la maturité un bon nombre de couches de cellules parenchymateuses, peu ou point chargées de mucilage, écrasées par la poussée des cotylédons. A la limite extérieure de cette partie de l'endosperme, les membranes mucilagineuses sont beaucoup moins épaissies que partout ailleurs, et il n'est pas rare de les voir renfermées entièrement dans la mince membrane primaire. C'est sur ces cellules surtout que nous avons concentré nos efforts, pour mettre en évidence la succession des membranes secondaires. L'oxyde de cuivre ammoniacal est ce qui réussit le mieux. En dehors de la coloration bleue qu'il communique au mucilage, il produit dans les membranes un gonflement léger, uniquement dû, selon toute apparence, à leur imbibition, sans réaction chimique. Cela suffit aux endroits indiqués pour révéler sur certaines cellules la structure que nous avons dessinée dans la fig. 13.

L'acétate neutre de plomb en solution concentrée peut aussi agir de même, mais les résultats sont moins nets et moins probants.

Si l'on dépose quelques fines coupes de l'endosperme dans une solution de nitrate d'argent au titre de 1 o/o, il s'opère au bout de quelques heures, par l'effet de la lumière, un précipité noir d'argent métallique au contact des membranes mucilagineuses, qui fait très bien ressortir la structure reproduite dans la fig. 13. Mais bientôt le précipité s'étend également à toute la préparation, et la stratification des membranes cesse d'être visible.

On remarquera que la membrane tertiaire, cellulosique, possède un contour fortement accusé, tant à l'intérieur que contre le mucilage, et qu'elle n'est pas simple, mais constituée de plusieurs couches très minces, régulièrement emboîtées les unes dans les autres. De plus, elle présente des stries

transversales très fines, qui ne sont pas partout également visibles. Cette membrane tertiaire, ou tout au moins quelques-unes des lamelles qui la composent, paraissent s'accoler à la membrane primaire et lui faire un double revêtement dans le fond des ponctuations.

En cet endroit, les stries transversales se montrent souvent beaucoup plus développées. En réalité, ce ne sont plus des stries, mais l'indication des plaques cribreuses dont nous parlerons bientôt.

La membrane primaire des cellules que nous avons figurée, d'une grande minceur, n'est pas colorée par le réactif de SCHWEITZER, ni par le nitrate d'argent.

On pourrait déjà conclure de cette persistance de la membrane primaire en son entier à l'entour de cellules à parois mucilagineuses bien marquées, que le mucilage en question ne correspond nullement à la gélification de la lamelle moyenne, comme le dit VAN TIEGHEM, pas plus qu'il n'est un produit d'exsudation au dehors des cellules, une substance intercellulaire en d'autres termes. Mais il est de ces deux points une autre preuve tout aussi directe.

De la graine mûre, remontons aux différentes étapes du développement de l'endosperme. Bientôt l'on verra s'augmenter, du côté externe et du côté interne de l'albumen, le nombre de rangées de cellules où la membrane primaire est visible en son entier. Quelques degrés plus haut, et toutes les cellules à mucilage auront le même aspect : deux membranes, l'une externe primaire, à tracé prismatique régulier, l'autre interne ou tertiaire, dessinant des formes irrégulières, étoilées, dont les bras vont rejoindre la membrane primaire, et enfin, dans l'intervalle libre, une substance homogène en apparence, en réalité stratifiée, l'ensemble des membranes secondaires. L'acétate basique de plomb est le réactif tout indiqué pour faire apparaître les différentes couches de mucilage, aux différentes étapes du développement de l'endosperme. Une ou deux minutes au plus d'action suffisent; on lave à l'eau distillée sous le couvre-objets, et l'on examine au microscope. Cette méthode est des plus simples et donne, en cas de réussite, des résultats complets.

On peut aussi recourir à la glycérine étendue ou à la gélatine glycinée de KAISER. Nous avons fait un grand nombre de préparations au moyen de cette substance composée d'après les indications de ZIMMERMANN (1). Les

(1) A. ZIMMERMANN : *Die botan. Mikrotechnik*; Tübingen, 1892, p. 49.

résultats, beaucoup plus constants que ceux de l'acétate basique de plomb, ne sont guère moins beaux et possèdent l'avantage de se conserver indéfiniment.

A notre connaissance, personne jusqu'ici n'avait recherché le développement des membranes de l'albumen dans la graine jeune du caroubier. Quand on a vu quelques coupes d'une graine arrivée aux deux tiers de sa croissance, le doute n'est plus possible; en aucun point de l'endosperme, les épaisses membranes mucilagineuses ne sont produites par la gélification de la membrane primaire, puisque celle-ci peut coexister avec elles dans toute l'étendue de ce tissu. L'opinion de M. VAN TIEGHEM est donc erronée; la gélification de la lamelle moyenne ne contribue que pour une quantité négligeable au dépôt de mucilage.

Mais ces mucilages ne sont-ils pas charriés de l'intérieur de la cellule à travers la membrane tertiaire cellulosique? Sont-ils déposés comme tels ou bien proviennent-ils d'une transformation chimique progressive de la membrane de cellulose?

Un fait guidera notre réponse. Nous avons signalé plus haut la présence de fibrilles transversales sur tout le pourtour extérieur de la membrane tertiaire. Ces fibrilles apparaissent on ne peut mieux sur les coupes qui ont séjourné une dizaine de jours dans l'eau légèrement alcoolisée, dans un tube ou un verre de montre, ou bien qu'on a fait bouillir pendant 20 à 30 minutes dans la potasse caustique à 20 0/0. Tout le mucilage a disparu: il ne reste plus que la membrane cellulosique enveloppée d'une véritable toison de fibrilles minces et granuleuses. Qu'est-ce donc cela? Tout simplement les trabécules constitutives des membranes secondaires, FIG. 14, *t*, et FIG. 17, *tr*.

La théorie biologique de la constitution des membranes, que l'image présente remet invinciblement en mémoire, est assez connue. H. VON MOHL le premier (1), puis, avec des variantes d'idées assez considérables, C. NAEGELI (2), plus tard, CARNOY (3) et WIESNER (4) ont élucidé cette question. La membrane cellulaire est un produit du protoplasme. Là où il s'organise en

(1) H. VON MOHL : *Vermischte Schriften botan. Inhalts*; Tubingen, 1845.

(2) C. VON NAEGELI : *Ueber den innern Bau der veget. Zellenmembran*; Sitz. d. math. phys. Cl. der K. B. Akad. München, 7. Mai und 9. Juli, 1854.

(3) J. B. CARNOY : *Biologie Cellulaire*, p. 198 et ss., Lierre, 1884.

(4) WIESNER : *Untersuchungen über die Organisation der veget. Z.lithaut*; Sitz. d. math. naturw. Cl. der Akad. zu Wien, B. XCIII.

membrane, le réticulum plasmatique dispose régulièrement ses trabécules en séries radiales et concentriques. Ces fibrilles, purement protoplasmiques, plastiniennes à l'origine, se transforment en substances à molécules moins complexes, telles que la chitine, les matières pectiques, la cellulose, etc., pendant que les vides laissés entre elles se comblerent d'un ciment spécial dérivé de l'enchylème. Parfois ce ciment conserve à l'intérieur de la membrane sa nature chimique propre; on peut alors le dissoudre par des liquides digestifs appropriés et faire ainsi ressortir l'élément fibrillaire. Le plus souvent, surtout chez les plantes, le réticulum et l'enchylème deviennent dans la membrane une même espèce chimique; la structure alors n'est plus visible que s'il y a une différence dans l'état physique des composants; par exemple les trabécules pourront être plus denses, renfermer une quantité d'eau de constitution ou d'imbibition moins considérable, ou vice-versa. Aussi beaucoup de détails des membranes, qu'on ne pourrait même soupçonner en examinant des objets desséchés, comme les poils des graines de cotonnier, apparaissent-ils fortement après gonflement par les acides ou la potasse.

Ce que l'on découvre dans la membrane de l'endosperme du *Ceratonia*, après l'emploi d'une des deux méthodes indiquées plus haut, est tout en faveur de cette théorie. Notre fig. 14 tracée à la chambre claire, sous un grossissement de 600, reproduit, aussi fidèlement que possible, l'aspect d'une préparation traitée par la potasse caustique. Les trabécules, dont la longueur n'est nullement forcée, viennent se terminer aux granules de la membrane tertiaire; celle-ci a perdu son double contour et se trouve beaucoup plus mince que dans la fig. 12 et 13, parce que la macération subie lui a enlevé tout le mucilage qu'elle pouvait renfermer à côté de la cellulose. En dehors de la membrane cellulosique, la première série de granules des fibrilles transversales est presque partout reliée par une mince fibrille longitudinale. Cela se voit surtout nettement dans les préparations aux endroits où les attaches entre cette série de granules et la membrane tertiaire se sont rompues, en *a*, fig. 14, et les ont laissées s'écarter l'une de l'autre. Il n'est pas rare de voir une seconde, parfois même une troisième série de granulations reliées pareillement par des trabécules longitudinales, mais nulle part nous n'en avons aperçu davantage. Il ne serait guère possible qu'il en fut autrement. L'allongement des cellules au double ou au triple, plus encore peut-être, produit par l'ébullition dans la potasse caustique ou le long séjour des coupes dans l'eau, a pour résultat de rompre les fibrilles longitudinales,

incapables à cause de leur ténuité de subir un tel étirement. Ou bien, ces fibrilles seraient-elles gélifiées complètement jusque dans le voisinage de la membrane cellulosique, tandis que les trabécules transversales subiraient une modification moins profonde? Cette supposition n'est en soi pas improbable et expliquerait aisément pourquoi, dans la graine mûre, là où les parois mucilagineuses sont très épaisses, aucune méthode ne parvient à mettre en relief les différentes couches secondaires. Quoi qu'il en soit, la structure réticulée primitive de l'ensemble des membranes secondaires ne saurait être ici révoquée en doute.

On ne peut encore déduire d'une manière positive la relation des trabécules des membranes secondaires avec le protoplasme. En effet, la macération par la potasse caustique a fait disparaître entièrement ce dernier élément de la cellule, et l'immersion prolongée des coupes dans l'eau alcoolisée a pour effet de contracter tout le contenu de la cellule en une masse presque informe, qui occupe le centre de la cavité cellulaire, FIG. 17, *p*. Mais que l'on veuille bien jeter un coup d'œil sur la FIG. 15 empruntée à la partie interne de l'endosperme en voie de maturité (graines de 8 à 12 mm.). L'alcool, dans lequel ces graines ont séjourné depuis la cueillette des fruits, a ratatiné le protoplasme au milieu de la cellule et mis à découvert sur une grande étendue les trabécules, *tr*, fortement étirées par le retrait du protoplasme. Ces minces fibrilles s'irradient régulièrement dans toutes les directions, rattachant le protoplasme aux membranes secondaires en train de se former; leur structure granuleuse, bien visible, les rend absolument identiques aux fibrilles transversales extérieures de la membrane tertiaire, FIG. 14 et 17, et la réaction de l'iode ne permet pas d'hésiter sur leur nature plastinienne. C'est donc bien le protoplasme qui organise l'appareil trabéculaire des membranes secondaires.

Répondons maintenant à la question posée plus haut sur le mode de formation des membranes mucilagineuses. Ce mucilage n'est pas charrié de l'intérieur à travers la membrane cellulosique. Si cela était, il est clair qu'on trouverait une certaine quantité de cette substance dans la cavité cellulaire elle-même. Or, à toutes les phases de la maturation, les réactions chimiques, et en particulier celle de l'iode et de l'acide sulfurique, démontrent clairement que les grains d'aleurone et quelques globules d'huile sont les seules enclaves de la cellule; le mucilage est localisé exclusivement dans les membranes.

De plus, dans cette supposition que nous voulons exclure, la structure fibrillaire des membranes qui vient d'être décrite ne trouverait plus son ex-

plication. La membrane tertiaire pourrait bien encore être disjointe de la membrane primaire par les amas de mucilage; semblable chose s'observe, par exemple, à l'extrémité des poils glandulifères des labiées; mais on ne comprend pas comment ni pourquoi des trabécules s'organiseraient dans ces dépôts.

Donc, le mucilage est formé à l'intérieur des membranes. Dérive-t-il d'une transformation de la cellulose qui compose toujours pour la plus grande partie la membrane tertiaire, ou bien sa molécule est-elle édifiée directement aux dépens des substances d'élaboration? L'analyse macro-chimique, comme on le verra plus tard, favorable à la seconde hypothèse, ne tranche cependant pas définitivement.

Quant aux réactions microchimiques, on groupe généralement les mucilages en deux catégories: 1° les mucilages vrais (*echte Schleime*), dont la caractéristique d'après FRANK(1) et TSCHIRCH(2) serait de fournir comme produit d'oxydation par l'acide nitrique de l'acide mucique et de l'acide oxalique à la fois; — 2° les mucilages cellulosiques (*Celluloseschleime*) qui, traités de la même manière, donneraient de l'acide oxalique seulement. Au microscope, les premiers se colorent en jaune par l'iode suivi de l'acide sulfurique, les autres ont encore les réactions de la cellulose(3) (coloration bleue par le chloro-iodure de zinc, par l'iode et l'acide sulfurique, etc.).

D'autres procédés sont encore en usage pour distinguer au microscope ces deux groupes, tels que l'emploi de l'acide rosolique, SZYSZŁOWICZ(4), et du rouge de ruthénium préconisé par MANGIN(5). Les résultats donnés par l'acide rosolique sont contradictoires et incapables de fournir une classification de quelque valeur(6); quant au rouge de ruthénium, MANGIN affirme qu'il se fixe énergiquement sur les gommes et mucilages dérivés des composés pectiques, sans colorer les mucilages formés par la cellulose ou par les produits de liquéfaction de la callose - (p. 654). Ce colorant ne prend nullement sur le mucilage du *Ceratonia*, ce qui indiquerait, d'après le texte cité, une provenance cellulósique; d'autre part, la coloration jaune foncé

(1) FRANK : Ouv. cité, p. 162.

(2) TSCHIRCH : Ouv. cité, p. 194.

(3) TSCHIRCH : Ouv. cité, p. 193.

(4) SZYSZŁOWICZ, d'après BEHRENS, *Hilfshuch* 7. *Ausführung mikroskopischer Untersuchungen*; Braunschweig, 1883, p. 311-314.

(5) L. MANGIN : *Sur l'emploi du rouge de ruthénium en anatomie végétale*; Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, Paris, T. CXVI, 20 Mars, 1893.

(6) NADLMANN : Ouv. cité, p. 193.

produite par l'iode plus l'acide sulfurique aux 2/3 devrait le ranger parmi les mucilages vrais. Donc il n'y a pas grand chose à espérer de ces diverses indications des auteurs. Mais on peut arriver à une solution en étudiant le développement de l'endosperme.

Dans la graine très jeune, toutes les parois cellulaires de l'ovule et de l'endosperme, uniformément minces, se colorent en bleu par le chloro-iodure de zinc; seul, le clivage des membranes aux angles des cellules permet de supposer la présence des matières pectiques au sein de ces membranes. Donc ici, on se trouve en présence d'un tissu cellulosique bien caractérisé. Plus tard, quand les épaisissements secondaires ne font qu'apparaître, la membrane primaire et la membrane la plus interne donnent encore aussi nettement l'une que l'autre la réaction de la cellulose, tandis que la substance qui les sépare reste d'un bleu moins accentué. A mesure que le développement se poursuit, l'endosperme se divise en deux parties de plus en plus tranchées, l'une parenchymateuse bordant l'embryon, l'autre extérieure chargée de mucilage. Nous avons déjà fait plus haut cette distinction. Or, il n'y a entre ces deux portions de l'endosperme qu'une différence de développement des membranes. Du côté extérieur de la graine, les cellules de l'endosperme conservent toute leur vitalité. Même quand le fruit est mûr, on peut y montrer facilement le noyau, le protoplasme en cordons avec la membrane de MOHL tapissant l'intérieur de la cellule, sans compter la riche réserve d'aleurone dont il sera question plus loin. A la partie interne, au contraire, les cellules, aplaties par le développement progressif de l'embryon, et, selon toute apparence, digérées en partie à son profit, perdent de bonne heure tout leur contenu et sont ainsi rendues incapables d'épaissir leurs membranes. Celles-ci restent donc forcément beaucoup plus minces que dans l'autre partie et ne contiennent que très peu de mucilage. Les deux parties, parenchymateuse et mucilagineuse, sont reliées par deux ou trois assises de cellules de transition, mucilagineuses, mais à parois moins épaisses que leurs congénères. Là encore, quand la graine touche à la maturité, le chloro-iodure de zinc marque en bleu sombre la membrane primaire et la membrane tertiaire, en bleu pâle la substance interposée, fig. 19. Plus loin, vers l'extérieur, les derniers vestiges de membrane primaire et de membrane tertiaire se colorent également en bleu, mais beaucoup plus lentement, et le mucilage se dissout à la longue sans réagir d'une manière bien sensible sur le chloro-iodure de zinc.

Enfin, dans les fruits de *Ceratonia* livrés au commerce, le mucilage de l'endosperme ne prend plus aucune teinte, la membrane primaire n'a plus que des traces de cellulose; la membrane tertiaire seulement bleuit vigoureusement.

Nous venons de suivre pas à pas l'évolution chimique des membranes de l'endosperme.

RÉSUMONS ce long exposé pour en dégager plus aisément la conclusion :

1° Dans le jeune âge, la membrane cellulaire est, peut-on dire, exclusivement cellulosique, en ne tenant pas compte de la minime quantité de matière pectique qu'elle renferme.

2° Quand l'épaississement secondaire a commencé, on y perçoit une membrane primaire et une membrane tertiaire de cellulose et, entre les deux, un produit de transformation, mucilagineux, encore imprégné d'une forte proportion de cellulose non modifiée.

3° Enfin, à la maturité, la transformation en mucilage dans les membranes secondaires est complète, la cellulose ne se montre plus avec évidence que dans la membrane tertiaire.

CONCLUONS : 1° Quoique le mucilage de la graine mûre de *Ceratonia* s'identifie avec les vrais mucilages par la coloration jaune subie en présence de l'iode et de l'acide sulfurique et par la production d'une faible quantité d'acide mucique après oxydation par l'acide nitrique (voir plus loin à la partie chimique), il n'en est pas moins de provenance cellulosique. Il est donc permis de soutenir que la distinction établie par FRANK et TSCHIRCH entre les mucilages vrais et les mucilages cellulosiques n'est pas fondée dans sa généralité.

2° Si, ce que nous ne mettons pas en doute, le phénomène d'*intussusception* est pour quelque chose dans l'accroissement des membranes, rien ne démontre qu'il ait dans le cas présent une importance plus grande que partout ailleurs. Nous ne pouvons accorder avec M. STRASBURGER que le mucilage est déposé comme tel, sous la forme de membranes secondaires, dans le *Ceratonia* (1).

3° La seule cause bien apparente de cet accroissement est l'apposition de couches de cellulose nouvelles à l'intérieur de la cellule et leur transformation successive en mucilage.

(1) E. STRASBURGER, dans *Lehrbuch der Botanik für Hochschulen* von E. STRASBURGER. F. NOLL, H. SCHENK, A. SCHIMPER, p. 69, 2^e Aufl., Jéna, 1895.

Ce que nous avons pu voir confirme les résultats énoncés par ce savant. Nous avons, entr'autres choses, reconnu l'exactitude de son observation

4° Cette réduction chimique de la cellulose en mucilage laisse subsister, au moins en partie, la structure réticulée propre aux membranes.

Tels sont les résultats que nous pouvons formuler à la suite de toutes les expériences que nous venons de détailler.

Un mot maintenant au sujet des *punctuations cribreuses*. On les trouve très abondamment dans la partie mucilagineuse de l'endosperme du *Ceratomia* et, d'après toutes les probabilités, toutes les cloisons qui traversent en leur milieu les punctuations des cellules de ce tissu sont autant de véritables cribles. Il suffit, pour bien les voir, de déposer quelques fines coupes de l'endosperme mûr dans une goutte d'acide sulfurique à 50 0/0; après avoir placé un petit verre sur la préparation, on l'abandonne à l'air pendant plusieurs jours, à l'abri de la poussière; l'acide se dilue lentement en faisant disparaître tout le mucilage. Au bout du temps indiqué, on enlève l'acide en lavant à l'eau avec précaution, et l'on peut luter la préparation. Les plaques cribreuses s'observent alors sans difficulté, FIG. 18, *pc*.

On peut aussi les faire ressortir par le chloro-iodure de zinc ou mieux encore par l'acide sulfurique succédant à l'iodure de potassium iodé. Cette dernière réaction, appliquée sur des coupes de graines jeunes encore, de 9 à 10 mm., permet souvent d'apercevoir les minces fibrilles de protoplasme jaune qui vont d'une cellule à l'autre à travers la plaque teintée de bleu.

Ce fait de la communication directe des cellules par des perforations ouvertes a été maintes fois signalé dans l'endosperme des graines et dans d'autres tissus (1). STRASBURGER va même jusqu'à dire que c'est un détail d'organisation commun à presque toutes les cellules (2).

Nous n'avons que très peu de chose à dire sur l'origine première de l'endosperme et de l'embryon du *Ceratomia*. Les matériaux dont nous avons pu faire usage étaient insuffisants pour nous permettre de mener à bonne fin l'étude de cette question. Ce point du reste a été traité, il y a plusieurs années déjà, par un auteur qui est un maître dans les recherches de ce genre, M. GUIGNARD (3).

(1) Voir pour la littérature TSCHIRCH, ouv. cité, p. 165.

(2) STRASBURGER : Ouv. cité, p. 74.

(3) L. GUIGNARD : *Embryogénie des Légumineuses*; ouv. cité.

sur la présence d'aréoles nombreuses dans la zone périphérique du protoplasme du sac embryonnaire, telles qu'il les figure en plusieurs endroits, notamment dans l'*Ononis fruticosa* (1). Pas plus que lui, nous ne pourrions nous prononcer sur la nature précise de ces productions, FIG. 20. Il faudrait pour cela des recherches spéciales et étendues et des matériaux frais. Nous n'avons jamais vu des noyaux dans ces portions aréolées du protoplasme.

Cotylédons.

Les cotylédons du *Ceratonia* sont très volumineux, comparés au reste de l'embryon, FIG. 2, mais leur anatomie ne présente rien de bien spécial. Toutes les cellules dont ils se composent, mêmes celles de l'épiderme et des faisceaux, sont bondées de réserves d'aleurone, comme l'endosperme. La paroi des cellules est formée de cellulose, sans dépôt d'amyloïde, substance que plusieurs auteurs ont signalée dans les cotylédons des légumineuses (2).

(1) L. GUIGNARD : *Embryogénie des Légumineuses*; Pl. V, fig. 133 et texte p. 88.

2) Cfr. TSCHIRCH : Ouv. cité, p. 173.

DEUXIÈME PARTIE.

Étude chimique de la graine du caroubier.

Les recherches chimiques qui sont ici consignées ont eu surtout pour objet la graine mûre, sèche. Les matériaux jeunes que nous possédons, ayant séjourné longtemps dans l'alcool, ne méritent plus, au point de vue où l'on se place ici, qu'une confiance très limitée.

Disons d'abord, pour n'être pas constamment obligé de citer les mêmes auteurs, que nous avons pris surtout pour guides de cette partie de notre travail les ouvrages de A. ZIMMERMANN, *Die botanische Mikrotechnik* (ouv. cité) — de A. TSCHIRCH, *Angewandte Pflanzenanatomie* (ouv. cit.) et de E. STRASBURGER, *Guide pour l'étude de la botanique microscopique*, traduction de J. GODFRIN, Paris, 1886, et *Lehrbuch der Botanik*; Jena, 1895 (ouv. cit.).

Les détails qui ont été empruntés à ces manuels ne concernent, comme les titres l'indiquent suffisamment, que les réactions microchimiques.

I. *Tégument de la graine.*

La cuticule épidermique de notre graine laisse après incinération un squelette minéral blanc, sur champ noir, abondant, uniformément répandu dans toute son épaisseur. Traitée par voie humide au microscope, cette partie minérale apparaît presque exclusivement composée d'oxalate calcique, en forme de granules ou de petits bâtonnets mal cristallisés.

L'acide acétique glacial ou étendu à 10/10 ne les attaque pas, l'acide chlorhydrique et l'acide nitrique les dissolvent sans dégagement gazeux, l'acide sulfurique les convertit en aiguilles de gypse agglomérées. Nous avons représenté ces granules d'oxalate de calcium en *me*, FIG. 6.

La limite externe de la cuticule, finement grenue, est cutinisée, *c*, FIG. 6, et *D*, FIG. 5. Elle résiste à l'action de l'acide sulfurique fort et de l'oxyde de cuivre ammoniacal, disparaît lentement dans l'acide chromique concentré, se colore en jaune-brun par l'iode et l'acide sulfurique et par le chlorure de zinc iodé, en jaune plus pâle dans la potasse caustique en solution aqueuse concentrée.

En dessous, le chlorure de zinc iodé révèle encore des restes de cellulose.

La plus grande masse de la cuticule est constituée par une matière organique amorphe, susceptible de se gonfler à la longue dans l'eau à la température ordinaire, soluble dans l'eau bouillante, les acides chlorhydrique, chromique et sulfurique.

Ce caractère la sépare de la substance cuticulaire proprement dite, réfractaire à l'action de l'acide sulfurique. D'autre part, elle s'en rapproche par la coloration jaune d'or qu'elle prend au contact de la potasse caustique à 10 ou à 50 o/o. Outre la manière dont elle se comporte vis-à-vis des dissolvants indiqués plus haut, la couleur jaune foncé, que lui communique l'iode et l'acide sulfurique ainsi que le chlorure de zinc iodé, fait penser que cette substance pourrait bien appartenir au groupe des gommes et des mucilages. Or toutes ces réactions peuvent très bien se concilier, si l'on remarque que, d'après les travaux de E. GILSON⁽¹⁾ et de MANGIN⁽²⁾, la cutine, la subérine, les matières pectiques (pectose, pectate de chaux, acide métapectique, etc.), les gommes et les mucilages ont entr'eux de nombreuses affinités. Peut-être la cuticule du *Ceratonia* possède-t-elle un peu de tout cela à la fois.

Nous ne nous expliquons pas bien d'autres caractères de cette substance propre à la cuticule du caroubier, tels que l'absence de coloration vis-à-vis de l'écarlate de crocéine, du bleu d'aniline, de la fuchsine acide et du rouge Congo, et la coloration vive après immersion dans le vert de méthyle, le bleu de méthylène neutre, le rouge de ruthénium très dilués.

Les quelques lamelles de la membrane de l'épiderme qui s'engagent en arcades dans la cuticule, FIG. 6, *me*, sont, en bonne partie du moins, composées de cellulose, comme on peut s'en assurer par les réactifs caractéristiques de cette substance.

Le squelette minéral de l'épiderme proprement dit est moins riche que celui de la cuticule, et conserve fort bien les formes des cellules en palissade. On n'y retrouve plus trace de la ligne de lumière, dont il a été question au début de ce travail. La proportion de sels minéraux est à peu près uniforme pour les autres assises cellulaires du spermodermes.

C'est la cellulose qui constitue la partie la plus considérable des membranes de la primine. Les réactions de la lignine ne se produisent d'une ma-

(1) E. GILSON : *La subérine et les cellules du liège*; *La Cellule*, 1890, t. VI.

2) MANGIN : Ouv. cité.

nière nette que dans l'hadrome du faisceau vasculaire de la graine. Cette affirmation est contraire à celle de TSCHIRCH(1). Cet auteur prétend que toutes les scléréides sont très fortement lignifiées. Par scléréides, il entend non seulement les deux couches de soutien (Trägerzellen) que nous avons signalées dans la partie histologique, mais aussi les cellules en palissade (p. 301). Il faut donc fournir la preuve du fait controversé.

Pour nous mettre à couvert de toute contestation possible au sujet des détails de manipulations, d'où dépendent souvent d'une manière capitale les résultats et leur interprétation, nous avons, chaque fois que le cas s'en est présenté, fait usage d'un *témoin*, d'une préparation classique, qui, toujours traitée comme nos coupes de *Ceratonia*, fournit une comparaison sure et facile.

Ici, nous avons pris pour témoins des coupes transversales de jeune tige d'Aristolochie (*Aristolochia clematitis*), dont l'anneau de stéréome et les faisceaux d'hadrome constituent les éléments incrustés de lignine.

La meilleure des réactions caractéristiques de la lignine est sans contredit la superbe coloration rouge cramoisi déterminée par la solution aqueuse ou alcoolique de phloroglucine, après addition d'acide chlorhydrique concentré. Cette méthode est fidèle, quand on l'applique avec soin, et permet de rechercher même des traces de lignine.

L'oxyde de cuivre ammoniacal ne dissout pas les tissus lignifiés; l'iode avec l'acide sulfurique et le chloro-iodure de zinc les colorent en jaune plus ou moins foncé. La fuchsine acide donne une belle coloration rouge, encore accentuée par l'addition d'un peu d'acide chlorhydrique fort.

Le témoin ne laisse aucun doute sur l'exactitude de ces réactions, tandis que les coupes de *Ceratonia* se comportent tout différemment. L'ensemble des tissus de la primine est doré par la phloroglucine, et cette teinte n'est nullement modifiée par l'acide chlorhydrique. La couleur rose très légère laissée par la fuchsine acide s'évanouit de suite au contact de l'acide chlorhydrique. Par contre, les réactifs iodés de la cellulose donnent sur les membranes de la primine la coloration bleue sombre, immédiatement, si l'on se sert de l'iode suivi de l'acide sulfurique, lentement, mais aussi sûrement, s'il s'agit de chloro-iodure de zinc. Le bleu de méthyle, le bleu d'aniline, le bleu de Berlin colorent aussi très bien; de même encore le rouge Congo. L'acide sulfurique concentré et le réactif de SCHWEITZER dissolvent

(1) TSCHIRCH : Ouv. cité, p. 177.

toute cette enveloppe, à part les membranes primaires, et l'on sait que tous ces caractères qui viennent d'être énumérés sont distinctifs de la cellulose. Il nous semble donc avoir suffisamment prouvé l'exactitude de notre affirmation, contre celle de TSCHIRCH.

La cuticule, l'épiderme et tout le tissu sous-jacent jusqu'à la secondine sont imprégnés d'une substance qui, en coupe un peu épaisse, leur donne une teinte jaune assez prononcée.

Tout fait croire que c'est un tannin du groupe spécial qu'on a appelé les *phlobaphènes*, à cause de leur coloration et de leur présence fréquente dans les écorces. En effet, l'ensemble du premier tégument devient vert noir par les solutions ferriques, en particulier par le perchlorure de fer, rouge brun par le bichromate de potassium, brun d'acajou par l'acide chromique à 1 o/o, bleu sombre par l'acide osmique à même dose. Ces caractères réunis ne conviennent qu'aux tannins. L'épiderme en palissade paraît en être chargé plus abondamment que le reste. Ça et là, dans le parenchyme, on rencontre des cellules dont la cavité est remplie par un caillot jaune, sans structure visible, qui réagit intensément comme tannin. Ces caillots sont surtout nombreux dans le voisinage et à l'intérieur du faisceau vasculaire de la graine, qui est d'une couleur jaune fort accusée et d'une richesse en tannins toute spéciale, fig. 11, *t*. Partout ailleurs, ce sont surtout les membranes qui ont absorbé le tannin, le protoplasme ayant plus ou moins complètement disparu.

La secondine est fortement colorée en jaune et tranche vivement sur les préparations. A quoi tient cette particularité? Probablement encore à un tannin, extraordinairement résistant. L'action de l'eau de javelle parvient seul à décolorer les membranes sans les détruire. Nous avons vainement tenté de dissoudre cette substance colorante par l'alcool, le chloroforme, l'éther sulfurique, l'essence de pétrole, le xylol, l'essence de girofle et de cajeput, l'eau bouillante, les acides nitrique, chromique et acétique à 1 o/o. On peut faire passer l'acide phosphorique concentré ($D = 1,20$), l'iode de potassium, soit seul, soit avec l'acide sulfurique ou l'acide phosphorique, l'acide acétique glacial, la phloroglucine et l'acide chlorhydrique, rien n'y fait. Mais le chlorure ferrique détermine une coloration verte, et l'acide osmique à 1 o/o noircit le tissu en moins d'une heure. L'acide chlorhydrique concentré gonfle légèrement ces cellules, que l'acide sulfurique très concentré ($D = 1,84$) vide d'abord, disloque ensuite, mais en respectant la coloration des parois. Enfin, par l'action de l'acide nitrique concentré,

comme aussi de la potasse à 10 ou 50 o/o, la secondine passe à une tonalité jaune d'or, tandis que dans une goutte d'acide chromique très fort elle se décolore et finit par disparaître.

Vis-à-vis des colorants artificiels, la secondine absorbe le vert de méthyle, le bleu de méthylène, le bleu carmin, l'hématoxyline et, en présence d'un peu d'acide sulfurique, le bleu d'aniline. Ces différentes couleurs se fusionnent avec la teinte particulière de la secondine ou même la dominent complètement. D'autres colorants, tels que la fuchsine acide, l'écarlate de crocéine, le rouge Congo et le rouge de ruthénium, l'anchusine et l'acide rosolique, le picro-carmin, etc., disparaissent entièrement au lavage.

Parmi les réactions qu'on vient d'énumérer, celles qui sont distinctives de la subérine (potasse caustique, iode, acide sulfurique et acide chromique concentrés, acide osmique à 1 o/o, colorants) démontrent que la membrane est très fortement subérifiée.

On peut passer rapidement sur le péricarpe à cellules écrasées, qui constituent les restes de l'ovule primitif, tissu cellulosique ordinaire, sans intérêt, pour arriver à l'endosperme et à la plantule. Tout ce qui concerne la membrane primaire et la membrane tertiaire des cellules de l'endosperme et les membranes de l'embryon a déjà été dit précédemment. Il ne sera donc plus besoin d'y revenir. Il reste avant de passer à l'analyse chimique à définir le contenu cellulaire qui est le même dans ces deux parties de la graine.

II. *Contenu cellulaire de l'endosperme et de l'embryon.*

En abordant ce présent travail, nous croyions savoir, d'après VAN TIEGHEM, que l'on trouvait dans l'endosperme du caroubier des grains de fécule ou amidon : « Quand l'albumen corné est gélifié, dit-il, ses cellules contiennent de l'amidon, il se rapproche de l'albumen amyleré (caroubier) (1). » Et comme légende de la figure de cet endosperme, VAN TIEGHEM indique « en a le protoplasme avec grains d'amidon (2). »

Aussi n'avons-nous pas été peu surpris, lorsque nous vîmes pour la première fois l'iode, au contact de l'endosperme, colorer les grains de ses cellules, non pas en bleu, mais en jaune. Il est vrai que dans les deux éditions de son grand *Traité de Botanique*, VAN TIEGHEM s'exprime tout autrement :

(1) PH. VAN TIEGHEM : *Éléments de Botanique*; 2^e édition, revue par l'auteur, Paris, 1891, 1, p. 427.

(2) Ibid., p. 34.

„ Dans l'albumen corné ... quelquefois les membranes subissent une transformation et se gélifient à l'exception de la couche interne, ... comme dans le Caroubier. *Dans tous les cas*, ses cellules contenant des matières grasses et non de l'amidon, l'albumen corné se rapproche plus de l'albumen oléagineux que de l'albumen amylicé (1). - Voilà donc deux opinions soutenues par le même auteur, à la même époque (1891), dont l'une exclut l'autre. Si l'on faisait remarquer à M. VAN TIEGHEM sa distraction, il pourrait dire laquelle de ces deux opinions lui semble vraie, mais nous devons déclarer que les deux sont également fausses. Les grains polyédriques, qu'on observe dans les cellules de l'endosperme et dont les cellules des cotylédons sont littéralement bondées, ne sont ni fécule ni matière grasse, mais des substances protéiques, des grains d'aleurone. Il y a sans doute à côté des grains d'aleurone de petits globules graisseux, teints en brun par l'acide osmique; on peut les observer séparément après avoir fait disparaître l'aleurone par immersion prolongée dans la potasse caustique diluée; mais ce n'est qu'une minime proportion du contenu cellulaire. Quant à l'amidon, il n'y en a pas trace.

Les grains d'aleurone s'observent sans difficulté à l'aide des solutions d'iode, qui leur donne une belle coloration variant du jaune au brun acajou suivant la concentration du réactif. Ils possèdent une puissance d'électivité étonnante vis-à-vis du rouge Congo. Une trace de ce colorant dans la glycérine est bientôt fixée par les grains d'aleurone, à l'exclusion des membranes cellulaires. Celles-ci ne prennent le colorant que s'il est en excès. Le bleu d'aniline agit à peu près de la même façon.

Le réactif de MILLON préparé soit d'après la méthode de PLUGGE (2), soit d'après celle de NICKEL (3), donne au bout de quelques heures à froid une belle coloration rouge brique. On peut de même colorer au moyen de l'éosine ou de la fuchsine acide, après fixation par le sublimé corrosif à 2 o/o.

On sait que les grains d'aleurone sont des productions très variées quant à leur forme, leurs dimensions, leur teinte et même, dans certaines limites, leurs réactions. Dans le *Ceratonia*, la substance fondamentale des grains ne se dissout pas dans l'eau, comme TSCHIRCH déjà l'a remarqué (4),

(1) PH. VAN TIEGHEM : *Traité de Botanique*; 1^{re} édition, 1881, et 2^e édit., Paris, 1891, p. 919.

(2) PLUGGE : *Salpeterige Saure haltiges Quecksilbernitrat als Reagenz auf aromatische Körper mit einer Gruppe OH am Benzolkern*; Archiv der Pharmacie, 1890, B. 228, p. 9.

(3) NICKEL, EMIL : *Die Farbemreaktionen der Kohlenstoffverbindungen*; 2^e Aufl., Berlin, 1890, P. 7.

(4) TSCHIRCH : Ouv. cité, p. 45.

mais se gonfle sans changement sensible dans la forme. L'eau bouillante réduit tout le contenu cellulaire en une masse homogène, granuleuse.

L'aleurone que nous étudions se dissout rapidement dans une solution concentrée de phosphate de sodium, dans l'acide acétique à 10/0, le chlorure de sodium à 10 0/0, l'acide chlorhydrique dilué dans l'alcool à 40 0/0, en ne laissant plus subsister que les globules d'huile peu nombreux et les mailles du protoplasme.

De ces réactions, les deux premières indiquent l'absence de cristalloïdes. Pareille absence a été constatée également dans l'aleurone du *Colchicum*, du *Brassica*, *Sesamum*, *Strichnos n. v.*, *Amygdalus*, *Fagus*, etc. (1).

Nous n'avons pas non plus trouvé de globôïdes dans l'aleurone de *Ceratonia*. On serait tenté de prendre pour globôïdes les globules graisseux qui s'observent dans toutes les cellules après dissolution de l'aleurone. Mais l'acide osmique les brunit et révèle ainsi la vraie nature de ces globules.

Ils sont d'ailleurs insolubles dans le phosphate de sodium, l'acide picrique, l'acide acétique et la potasse caustique à 10/0, et solubles entièrement dans l'éther sulfurique, propriétés opposées à celles qu'on attribue généralement aux globôïdes.

Toutes les expériences que nous avons faites, soit au microscope polarisant, soit par les réactifs dissolvants, établissent donc que l'aleurone du caroubier ne renferme ni globôïde ni cristalloïde. C'est, pour employer l'expression reçue, de l'aleurone amorphe.

Pour bien se rendre compte des dimensions des grains d'aleurone et de leur forme, le meilleur véhicule de préparation est l'huile ou l'essence de térébenthine. La pénétration parfaite par ces liquides des coupes d'endosperme montre jusqu'à quel point les graines de *Ceratonia* peuvent se dessécher sans perdre leur faculté germinative. L'eau, que l'endosperme renferme encore et dont on trouvera la proportion à la fin de l'analyse chimique, doit être pour la presque totalité de l'eau de constitution. L'essence de térébenthine présente ici sur la glycérine l'avantage de dissoudre les substances grasses et de ne gonfler nullement les grains d'aleurone. L'alcool absolu, qu'on recommande aussi pour cet usage, ne peut trouver emploi, parce que les membranes du *Ceratonia* ne peuvent s'en pénétrer.

Les grains d'aleurone, comme nous l'avons déjà dit, sont polyédriques, affectant souvent des formes cristalloïdes, par suite de leur pression les uns

(1) TSCHIRCH : Ouv. cité, p. 50.

contre les autres. Leur diamètre varie dans les limites de 1 μ environ à 4 μ , FIG. 21, *al.* Ils creusent dans le protoplasme des alvéoles à parois minces, qu'on peut mettre en relief et colorer, avec le noyau tout petit, après dissolution de l'aleurone par un séjour suffisant des coupes dans le phosphate de sodium.

On s'aperçoit alors que les lamelles protoplasmiques ne sont pas massives et homogènes, mais finement fibrillaires, telles que nous les avons dessinées en *p*, FIG. 22.

III. *Analyse chimique des membranes mucilagineuses de l'endosperme.*

Pour plus de clarté, nous diviserons ce troisième chapitre de nos recherches chimiques en deux paragraphes, dont l'un sera consacré à l'analyse qualitative, l'autre aux essais d'analyse quantitative.

§ I. *Analyse qualitative*

Préparation du mucilage. Quelques mots d'abord, en guise de préliminaires. Puisque nos réactions n'auront pour objet principal que l'endosperme, il faut en premier lieu, cela va de soi, isoler celui-ci. En frappant au marteau la graine sur sa tranche, on parvient assez aisément à la fendre; on se sert ensuite du couteau pour enlever les cotylédons et le tégument. Cette opération, très fastidieuse, est considérablement simplifiée, si l'on prend soin de faire gonfler les graines dans l'eau; mais les matériaux préparés de cette façon présentent des désavantages évidents, eu égard au but que nous poursuivons.

Les endospermes ont été d'abord mis à digérer dans de l'eau distillée, à froid. Après avoir décanté plusieurs fois le mucilage ainsi obtenu, nous avons continué à extraire la matière gommeuse par l'eau distillée, mais cette fois au bain-marie bouillant. L'extraction à froid dura quinze jours, l'épuisement à chaud huit jours encore. Les liquides ainsi obtenus furent filtrés primitivement à froid sur des tubes de SOXHLET garnis de laine de verre et d'amiante en fibres, et soumis à la succion d'une trompe à eau de GEISSLER. La filtration était très pénible et fournissait à peine un écoulement de 100 cc. après 15 heures. Nous eûmes alors recours à la filtration à chaud, par l'emploi de l'entonnoir à double enveloppe et d'un simple tampon d'ouate hydrophile au lieu du papier-filtre. En remplaçant

fréquemment ce tampon, on obtient avec le secours de la trompe une filtration beaucoup plus rapide et des liquides moins opalescents.

Le maximum de densité (1) du filtrat obtenu d'après cette première méthode fut trouvé égal à 1,00282 à 15° C. Le liquide, très filant, contenait dans 100 cc. 0,831 gr. de substance séchée à 100°. A 110°, on trouva 0,828 gr., soit une perte d'eau de 0,30 0/0. Le poids des cendres fut de 0,0042 gr., ce qui équivalait à 0,55 0/0. C'est fort peu de chose, et si l'on songe au temps nécessaire pour obtenir quelques grammes de mucilage en solution plus ou moins réelle, on ne sera guère tenté de faire l'analyse de ce résidu minéral. C'est pourquoi nous y avons renoncé.

La substance mucilagineuse, capable, avec le temps, de se prendre en gelée à la concentration de moins de 1 0/0, ne jouit à aucun degré de propriétés agglutinatives. Elle se sèche à l'air en masses écailleuses, à demi transparentes, très peu solubles.

Propriétés physiques et chimiques. Voici maintenant quelques réactions du liquide muqueux.

Le réactif de MILLOX, fraîchement préparé d'après l'une ou l'autre des méthodes citées plus haut, ne donne pas l'ombre d'une coloration rouge ou rosée; ce fait implique l'absence des matières albuminoïdes ordinaires, des phénols et des dérivés tyrosiniques(2).

Le mucilage précipite en gros flocons blancs par l'acétate neutre, ainsi que par le sous-acétate de plomb; ces flocons sont insolubles dans l'eau et dans un excès de réactif.

Il précipite également par l'acide tannique, mais en longs filaments, que l'eau redissout assez facilement.

Même chose en présence de l'alcool, gros filaments s'agglutinant très facilement. Ceux-ci se lavent aisément dans l'alcool faible et se redissolvent lentement dans l'eau, quand la préparation est récente; mais il devient très difficile de les redissoudre, quand la masse déshydratée par l'alcool a pris la consistance de la chair d'huitre.

Le chlorure de baryum et celui de calcium ne donnent pas de précipité. L'hydrate de baryte en solution saturée et en excès précipite le mucilage

(1) Par le flotteur de REIMANN à la 5^e décimale.

(2) Cfr. HOPPE-SEYLER : *Handbuch der physiol.-pathol. chemischen Analyse*; Berlin, 1893.

DUCLAUX : *Leçons orales de chimie physiologique*.

NICKEL, EMIL, et PLUGGE : Ouv. cités.

en une masse blanche. Avec la chaux ou le chlorure ferrique, on n'obtient pas de dépôt du mucilage.

La liqueur ne réduit pas le réactif de FEHLING (1), mais celui-ci en précipite des flocons bleu pâle assez volumineux, qui même après plusieurs heures au bain-marie gardent leur couleur. Chose assez curieuse, dont nous n'avons pas l'explication, ces flocons attaquent assez fortement le verre des récipients qui les renferment.

On obtient des précipités cuivriques du même genre avec toutes les solutions cuivriques renfermant un alcali libre, liqueur de SCHWEITZER, sulfate de cuivre additionné de soude ou de potasse, etc. Le précipité obtenu de cette dernière manière, après plusieurs lavages par décantation, nous a fourni les données analytiques suivantes :

Poids du précipité séché à 100 o/o	0,0691 gr.
- - résidu du calcination	0,0477 gr.
Oxyde de cuivre	0,0370 gr., soit 53,54 o/o de la masse.
Matière organique	0,0214 gr.

On obtient pour composition centésimale du produit :

Matière organique	30,97 o/o
Cendres	67,93 o/o
Les cendres renferment : CuO o/o	77,56
Alcali o/o	22,44, soit approximativement, tous calculs faits, 4 molécules de CuO pour 1 mol. de K ₂ O.

Pour mieux nous assurer que le mucilage ne réduit pas les sels cuivriques, nous avons eu recours à la liqueur carbonatée de OST (2), qui ne donne aucun précipité grumeleux; la réduction a été nulle, comme d'ailleurs

1) Liqueur de FEHLING préparée d'après VIOLETTE, avec tables de réduction :

1° Faire dissoudre 260 gr. de sel de Seignette dans 200 cc. d'eau distillée, ajouter 500 gr. de soude caustique à 24° Baumé

2° Faire dissoudre 36 gr. 46 de sulfate de cuivre cristallisé dans 140 cc. d'eau. *

3° Mélanger les deux solutions en versant la seconde dans la première et compléter à 1 litre à 15°. Conserver à l'abri de la lumière

10 Cc. de cette liqueur correspondent à 0 gr. 050 de saccharose ou à 0 gr. 0526 de glucose ou de sucre inverti.

(2) V. LIEPMANN : *Chemie der Zuckerarten*; Braunschweig, 1895, p. 304. Cette liqueur se compose d'une solution de 250 gr. de carbonate neutre de potassium et de 100 gr. de bicarbonate dans 700 cc. d'eau chaude; ajouter une solution de 23 gr. 5 de sulfate de cuivre, agiter, filtrer et compléter à 1 litre.

avec la liqueur de PELLET (1). La liqueur de BARFOED et la solution alcaline de bleu de méthylène confirment encore ces indications.

Le mucilage possède un pouvoir rotatoire dextrogyre qui a été trouvé égal à $+ 10^{\circ}$ à 20° c. pour la raie D du sodium (2).

Il est insensible à l'action de la diastase du malt.

L'eau sous pression n'influe aucunement sur son pouvoir rotatoire et n'y détermine aucun pouvoir réducteur, mais elle en facilite la filtration.

L'acide salicylique, préconisé par BAUDRY (3) après MARX (4) pour la dissolution et l'analyse polarimétrique de l'amidon, diminue encore plus que l'eau sous pression la cohésion du mucilage et en permet la filtration relativement rapide sur un simple filtre de papier. On fait ressortir facilement cette division de la matière, quand, après avoir enlevé l'acide salicylique par agitation avec l'éther, on précipite la gomme par l'alcool. Au lieu des gros filaments que nous connaissons déjà, on obtient des grumeaux très petits, dont le dépôt se fait fort lentement. Cependant, si l'on abandonne une portion de liquide non débarrassée de l'acide salicylique, elle ne tarde pas à se prendre en une masse à demi consistante, comme si aucun changement n'était survenu.

L'acide tartrique, dont on a fait l'éloge dans la pratique pour le même usage que l'acide salicylique, opère une dissolution complète, absolument incolore, comme la précédente; mais il suffit que la solution en contienne seulement 1 o/o pour que le pouvoir rotatoire augmente de moitié. De plus, on obtient par ce traitement une forte réduction des liqueurs cuivriques et mercuriques, avec suppression totale des grumeaux bleus. Nous devons ajouter toutefois qu'au lieu d'une simple ébullition avec tube de reflux, nous avons ici chauffé pendant une heure à trois atmosphères.

Dans les mêmes conditions, 1 o/oo d'acide oxalique double le pouvoir rotatoire obtenu par l'acide salicylique et fournit le pouvoir réducteur maximum. La solution est également incolore. L'acide sulfurique au 1000^{me}, sur une autre portion du même liquide et dans les mêmes conditions, donne une solution jaune indiquant un commencement de destruction, avec une proportion d'humus quasi nulle. Les pouvoirs rotatoire et réducteur sont cependant exactement les mêmes qu'avec l'acide oxalique.

(1) PELLET : *Bulletin de l'assoc. belge des Chimistes*, Févr. 1889, p. 149.

(2) Polarimètre de LAURENT, avec analyseur modifié par LANDOLT-LIPPIG, avec champ de vision partagé en trois. Construit par SCHMITT et HAENSCH, Berlin.

(3) BAUDRY : *Bull. de l'Assoc. belge des Chimistes*, oct.-déc. 1892, p. 159.

(4) MARX : *Laboratoire du brasscur*; procédé de BUNGENER et FRIES, Valence, 1889.

Au contraire, des proportions plus fortes d'acide sulfurique, et surtout d'acide chlorhydrique, détruisent des quantités notables de sucres dérivant du mucilage. C'est ainsi que 1,11 o/o de HCl donnent des proportions d'humus qui empêchent la lecture polarimétrique, même après de nombreuses filtrations sur filtres à sulfate de baryum; le résultat final, bien que concordant assez bien avec les précédents, laisse peu de satisfaction. L'acide sulfurique à la dose de 3,68 o/o attaque également les sucres, mais son action cesse dès que le liquide est refroidi, et l'on obtient beaucoup plus facilement une filtration claire.

Produits d'hydratation. Pour faire l'analyse qualitative des sucres obtenus par hydratation du mucilage de *Ceratonia*, nous avons suivi les règles posées par TOLLENS (1) et contrôlé nos expériences par les essais rappelés par VON LIPPMANN (2), refaits ou modifiés par MM. VAN DER PLANCKEN et BIOURGE (3) dans leur travail sur la miellée du Hêtre rouge.

Cinq grammes de matière supposée sèche ont été traités par 25 cc. d'acide nitrique de $D=1,15$. Évaporée avec précaution de façon à ne pas dépasser 60-70° à la fin de la réaction, la matière gommeuse fournit d'abord de l'acide mucique qu'on sépare par filtration sur de la laine de verre. Le sirop est ensuite saturé au bain-marie avec du carbonate de potassium sec, jusqu'à ce que le liquide soit fortement alcalin. On y ajoute alors de l'acide acétique concentré en excès. Au bout d'un temps assez long, il s'est séparé du saccharate acide de potassium, dont la forme cristalline fut trouvée au microscope absolument conforme à celle des saccharates provenant du saccharose et de la fécule.

Dans une autre expérience, le sirop, après séparation de l'acide mucique, abandonne par cristallisation des prismes caractéristiques d'acide oxalique. Nous n'avons pas observé la présence des cristaux d'acide tartrique.

Cette réaction implique la présence des groupes galactose et dextrose, et laisse supposer celle du groupement lévulose.

La présence de celui-ci est confirmée par la facilité de production d'humus sous l'action de l'acide chlorhydrique dilué, à chaud. En second lieu, les réactions de la résorcine, de la phoroglucine, du thymol, en présence de l'acide chlorhydrique, indiquent positivement la présence du lévulose. Il en

(1) TOLLENS : *Handbuch der Kohlenhydrate*; Breslau, 1888 et 1895.

(2) VON LIPPMANN : *Chemie der Zuckerarten*; Braunschweig, 1895.

(3) VAN DER PLANCKEN et BIOURGE : *La Miellée du Hêtre rouge*; La Cellule. t. XI, 2^e fasc.

est de même de la réaction au nitrate de cobalt. Le molybdate ammonique ne nous a donné que des indications vagues.

D'un autre côté, les réactions de réductions sont typiques pour le lévulose. La liqueur de FEHLING, celle de BARFOED, la solution acéto-tartrique de M. BOURGE (1), la liqueur de OST sont réduites à froid, cette dernière très rapidement. Nous avons vérifié sa sensibilité pour le lévulose en la faisant agir dans les mêmes conditions sur notre produit d'hydratation du mucilage de *Ceratonia*, sur une solution de glucose à 10 0/0, renfermant du lévulose en très petite quantité, et de saccharose inverti à 0,5 0/0.

En moins d'une heure, cette dernière solution avait séparé une forte proportion d'oxydure de cuivre d'un rouge extrêmement vif et pur. Il en était de même de notre solution de *Ceratonia*; quant au glucose suspect, il avait précipité un léger enduit de sous-oxyde de cuivre parfaitement caractérisé. Il n'est pas douteux que du dextrose pur n'aurait pas réduit d'oxyde cuivrique.

Enfin la liqueur acéto-tartrique de M. BOURGE à 1 0/0 d'acide tartrique a été réduite lentement à chaud, caractère que l'auteur, en l'absence de pentose, attribue au seul lévulose (2).

En ce qui regarde le mannose, d'après nos essais, les solutions oxalique et sulfurique, débarrassées des acides par la chaux et la baryte et de l'excès de celles-ci par l'acide carbonique, ne précipitent nullement par le sous-acétate de plomb, et nous n'avons pas obtenu à froid son hydrazone caractéristique, même après deux jours de contact. La phloroglucine fait aussi remarquer l'absence du groupe pentose.

L'essai au chlorhydrate de phénylhydrazine et à l'acétate de sodium à chaud (deux parties du premier pour trois du second) nous a donné des aiguilles groupées, longues et jaunes, de glucosazone, FIG. 23, mélangées d'une très faible quantité d'un autre osazone; nous noterons encore que la couleur du précipité est un peu différente de celle du précipité fourni par le saccharose inverti. Celui-ci est jaune serin, le premier est d'un jaune assez foncé, comme le galactosazone; mais nous n'avons pas trouvé dans le filtrat, après lavage à chaud, les grandes aiguilles du galactosazone, peut-être à cause de la faible proportion de galactose dans le mélange.

(1) J. VAN DER PLANCKEN et PH. BOURGE : Ouv. cité. M. BOURGE remplace l'acide acétique de la liqueur de BARFOED par 1 0/0 d'acide tartrique.

(2) Ibid.

On n'y découvrait que de courtes aiguilles, FIG. 24, qui plus tard s'orientent lentement en sphéro-cristaux.

Enfin, le mucilage, traité préalablement par les acides, a été soumis à un essai de précipitation fractionnée. On a fait d'abord usage d'un mélange d'alcool et d'éther à chaud, et le résidu est repris successivement par l'alcool bouillant à 97° et 75°, et enfin par l'alcool à 50°. On obtient ainsi après plusieurs semaines une série de cristallisations de formes différentes, mais en si faible quantité que l'identification au polarimètre ou par le point de fusion ne pouvait réussir.

La substance restée en solution dans le mélange d'alcool et d'éther, après cristallisation, a été évaporée, puis reprise par l'eau, et a fourni une lecture polarimétrique lévogyre de 5'. C'est la preuve la plus palpable de la présence du lévulose, s'il pouvait subsister encore le moindre doute à cet égard.

En résumé, il est hors de contestation que le mucilage de *Ceratonia*, hydraté par les acides, renferme du dextrose, du lévulose et du galactose; on ne constate la présence d'aucun autre sucre.

§ II. Analyse quantitative.

Les difficultés inhérentes aux déterminations quantitatives de sucres réducteurs en mélange sont nombreuses; il faut spécialement faire abstraction des pertes inévitables lors de l'inversion prolongée par les acides. Nous avons voulu cependant soumettre la graine du *Ceratonia* à des recherches de ce genre. Certes, on ne doit pas s'attendre à trouver ici des résultats rigoureusement précis. Aux yeux des savants qui connaissent exactement, telle qu'elle est aujourd'hui, cette partie de la chimie, des conclusions trop positives seraient la meilleure marque de l'inexactitude des essais accomplis (1).

L'endosperme, séparé comme précédemment des cotylédons et des téguments, a été moulu aussi finement que possible, après dessiccation, et ensuite épuisé par l'alcool à 60°, légèrement ammoniacal et bouillant.

Par cette opération, on a enlevé une assez forte proportion de matières, auxquelles il faut attribuer, pour la plus grande part, la difficulté que l'on éprouve à polariser le liquide mucilagineux.

(1) V. LIPPMANN : *ouv. cité.*

Après cela, nous avons soumis la masse à l'action d'une solution d'acide tartrique à 2 o/oo, à la température de 135° pendant deux heures. La désagrégation n'ayant pas été jugée suffisante, nous avons ajouté 1 o/ooo d'acide sulfurique, et la température a été maintenue pendant une heure encore à 135° à l'autoclave. La filtration s'opère assez aisément sur filtre plissé, préalablement dégraissé par l'éther dans un appareil de SOXHLET.

Nous avons ainsi obtenu 200 cc. d'une solution ayant une densité de 1,0117, et renfermant environ 3 o/o de substance sèche. Le résidu non dissous fut ensuite lavé à l'eau bouillante jusqu'à épuisement et la réunion des eaux de lavage fournit une seconde solution qui renfermait sensiblement 1 o/o d'extrait. Ces eaux furent évaporées pour le dosage du galactose par la méthode de TOLLENS-CREYDT, par oxydation à l'acide nitrique de $D=1,15$. Le poids de l'acide mucique formé sert de base au calcul. Pendant cette évaporation, le mucilage, au fur et à mesure de la disparition de l'eau, formait à la surface du liquide et sur les bords du récipient des croûtes opalescentes. Nous en primes occasion pour purifier notre produit par une précipitation à l'alcool. La masse coagulée fut bouillie à différentes reprises avec de l'alcool et finalement pesée. Cinq grammes de substance sèche et blanche furent placés dans un *Becherglas* ayant au fond un diamètre de 6 cm., conformément aux indications de TOLLENS et CREYDT, et mis à évaporer sur un bain-marie en présence de 60 cc. d'acide nitrique de $D=1,15$. La réaction fut arrêtée après réduction du liquide au tiers de sa hauteur primitive. Le contenu du récipient fut alors refroidi sous un filet d'eau, et le lendemain on constata la formation d'un volumineux dépôt d'acide mucique. Après avoir fait séjourner le tout dans une cave, pour activer la séparation de l'acide mucique, le dépôt fut pesé sur un filtre taré, après lavage avec 10 à 12 cc. d'eau à 15°.

Le poids d'acide mucique trouvé, 0,4044, correspond à 10,79 o/o de galactose; 100 gr. de galactose pur correspondent par la méthode CREYDT et TOLLENS (V. LIPPMANN) à 75 gr. d'acide mucique.

Dans une seconde expérience, on trouva 0,359 gr., ce qui conduit à 9,57 o/o de galactose.

Mais il est à remarquer que ces proportions de galactose sont inférieures à la réalité. En effet, si l'on conserve le filtrat dont on a séparé l'acide mucique, on peut voir au bout d'un certain temps qu'il dépose encore de l'acide mucique, mais en minime quantité. D'après nos appréciations, le chiffre du galactose doit être très approximativement 12-13 o/o.

Nous fîmes ensuite, sur des portions égales de la solution de mucilage à 3 o/o, des essais d'hydratation méthodiques.

a) 40 cc. additionnés de 1 cc. d'acide chlorhydrique renfermant 0,443 gr. de gaz chlorhydrique (1,1 o/o) furent chauffés dans un bain-marie bouillant pendant une heure; le ballon était fermé par un bouchon traversé d'un tube de 0,60 m. placé dans le but de condenser les vapeurs et de maintenir la concentration primitive. Après une heure, le liquide refroidi, très peu coloré, fut filtré et polarisé à 20° au tube de 100 mm. α fut trouvé égal à $+ 0^{\circ},37'$.

On prit alors le pouvoir réducteur du reste de la solution. La moyenne de plusieurs dosages concordants donne 1,91 o/o, soit sensiblement 2 o/o avec le facteur moyen connu : 1 cc. de solution de FEHLING = 5 mg. de sucre réducteur.

Si donc nous supposons qu'un tiers de la substance mucilagineuse est encore à son état primitif, en lui attribuant son pouvoir rotatoire originel de $\alpha D = + 10^{\circ}$, nous aurons pour une solution à 1 o/o de cette substance une déviation dextrogyre de $0^{\circ},0'(1)$. Déduction faite, il nous reste pour nos sucres réducteurs une rotation de $+ 0^{\circ},31'$, ce qui, d'après la formule $\alpha D = \frac{100\alpha}{l}$, nous donne pour 1,91 o/o de sucres réducteurs un pouvoir rotatoire de $+ 27^{\circ},02$.

b) 40 cc. de la même solution additionnés de 1 cc. d'acide nitrique de $D = 1,39-1,40$, soit presque exactement 2 o/o de HNO_3 , dans les mêmes conditions de température que l'essai précédent, donnèrent après une heure une lecture polarimétrique de $0^{\circ},40'$, après trois heures, de $0^{\circ},46'$.

Après avoir étendu cette solution à 250 cc., nous en avons pris le pouvoir réducteur. L'essai, basé sur le facteur ordinaire indiqué plus haut, indiquait 2,79 o/o de sucres réducteurs.

Si l'on applique ces données à la lecture polarimétrique obtenue en dernier lieu, en considérant que la partie du mucilage non hydratée est réduite à moins de 0,5 o/o, proportion qui rend négligeable son influence sur le polarimètre, le pouvoir rotatoire des sucres réducteurs sera sensiblement le même que précédemment, $\alpha D = 27^{\circ}43$.

c) Un troisième essai toujours dans les mêmes conditions, mais avec 0,5 cc. d'acide sulfurique de $D = 1,84$, soit 0,92 de H_2SO_4 ou 2 1/4 o/o, a fourni les données polarimétriques suivantes :

(1) Nous avons trouvé $0^{\circ},5'$ pour une solution de mucilage pur à 0,66 o/o.

Après 1 heure de chauffe, $\alpha = 0^{\circ}37'$.

~ 3 ~ ~ $\alpha = 0^{\circ}47' \frac{1}{2}$.

~ 6 ~ $\frac{1}{2}$ ~ $\alpha = 0^{\circ}46'$.

Arrivé là, nous avons procédé au dosage des sucres réducteurs. Il fut trouvé égal à 2,76 o/o; le précédent donnait le chiffre 2,79; l'accord ne pourrait être plus parfait dans la pratique. Tout au plus pourrait-on observer une tendance à la condensation, avec une augmentation légère de la déviation et une diminution du pouvoir réducteur. En supposant que le maximum du pouvoir réducteur était après trois heures égal à ce que nous l'avons évalué après 6 $\frac{1}{2}$ heures, les pouvoirs rotatoires sont pour les deux derniers essais respectivement de $\alpha_D = + 28^{\circ},69$ et $\alpha_D = + 29^{\circ},47$.

La moyenne des quatre pouvoirs rotatoires qu'on vient de déterminer est de $28^{\circ},16$, soit en chiffre rond 28° .

Cela étant, le problème à résoudre se pose dans les conditions suivantes. Un mélange de glucose, de lévulose et de galactose donne au polarimètre une déviation dextrogyre de 28° à la température de 20° C. A cette même température, le lévulose seul donne un angle de rotation de $- 90^{\circ},6$, le glucose $+ 52^{\circ}$, le galactose $+ 80^{\circ},5$. On demande la proportion de chacun de ces sucres dans le mélange.

Avec ces seules données, il ne nous est possible de poser que deux équations, dans lesquelles trois inconnues sont à déterminer.

On a, si l'on représente par x, y, z les quantités o/o de dextrose, galactose et lévulose :

$$(1) \quad x + y + z = 100.$$

$$(2) \quad 52 x + 80,5 y - 90,6 z = 28 \times 100 = 2800$$

On ne peut aboutir à une solution que si l'on introduit dans les équations la valeur de l'une des inconnues. Or, nous savons, par ce qui a été dit plus haut, que le galactose doit être dans le mélange à la dose de 12 — 13 o/o. En éliminant y qui est remplacé par l'une ou l'autre de ces valeurs et en résolvant les équations, nous trouvons :

Pour galactose 12 o/o; dextrose 68,8 o/o; lévulose 19,2 o/o

~ ~ 12,5 o/o; ~ 68,2 o/o; ~ 19,3 o/o

~ ~ 13 o/o; ~ 67,6 o/o; ~ 19,4 o/o

Ces trois séries de résultats ne donnent que des variations très faibles de lévulose (0,2 o/o) à cause de sa puissante déviation polarimétrique; le glucose, pour la raison opposée, varie plus que le lévulose et le galactose. L'analyse qualitative n'ayant pas dans le mélange décelé la présence d'autres

sucres que le galactose, le lévulose et le dextrose, et d'autre part le galactose ayant été dosé avec une précision suffisante pour autoriser nos calculs, nous devons nous en tenir, pour contrôler les résultats des autres méthodes d'analyse quantitative, aux chiffres déduits des lectures polarimétriques.

Les autres procédés dont nous avons fait usage sont empruntés aux faits d'expérience suivants :

1° Les pouvoirs rotatoires du galactose et du lévulose, ce dernier surtout, sont influencés par la température, mais en sens inverse, le lévulose déviant moins à gauche, le galactose moins à droite, à mesure que la température s'élève. Quant au glucose, il n'est pas sensiblement influencé. Les effets des variations de température pourront donc être annulés ou devenir sensibles au polarimètre par un déplacement positif ou négatif de la rotation, suivant la proportion des deux premiers sucres dans le mélange.

2° Il y a un rapport déterminé entre la quantité de liqueur de FEHLING nécessaire pour oxyder un poids donné de sucre et la quantité d'une autre liqueur, par exemple de la liqueur mercurique de SACHSSE, nécessaire pour le même but. Ce rapport est variable pour les différents sucres purs et pour leurs mélanges en proportions diverses.

Les chiffres sur lesquels sont basés ces rapports qu'on désigne par les lettres F S ont été déterminés avec soin par SOXHLET pour les différents sucres considérés comme purs. En se servant de ces rapports et en déterminant expérimentalement le quotient F/S d'un mélange quelconque de sucres connus, on peut arriver à des indications analogues à celles du polarimètre sur la proportion de chacun des sucres dans le mélange.

3° Des poids égaux de différents sucres traités de la même manière, avec des quantités constantes de phénylhydrazine et d'acide acétique glacial, donnent des poids d'osazones déterminés, différents pour chaque sucre⁽¹⁾.

Les recherches entreprises en suivant ces divers procédés sont extrêmement délicates et, quoique les expériences tentées dans ces différentes voies soient déjà nombreuses, nous n'avons pu jusqu'ici les faire concorder suffisamment avec les déductions fournies par le polarimètre. Nous réservons donc les résultats jusqu'à ce qu'ils soient mieux établis.

CONCLUSIONS. — Quoi qu'il en soit, nous croyons pouvoir affirmer dès maintenant les conclusions d'analyse suivantes :

(1) Méthode de MAQUENNE : Comptes rendus, Paris, t. 112, p. 799.

1° Le mucilage du *Ceratonia*, dissous sans inversion, dévie de 10° à droite le plan de la lumière polarisée, à la température de 20° .

2° Par hydratation en présence des acides, ce mucilage fournit trois sucres réducteurs, le dextrose, le lévulose et le galactose.

3° Après hydratation, le dosage provisoire, que nous espérons confirmer, indique dans le mélange 68 0/0 de glucose, 19 0/0 de lévulose, 12-13 0/0 de galactose.

Dosage de l'azote.

Nous avons évalué d'abord la proportion d'eau contenue dans la graine entière, et séparément dans l'endosperme, dans les cotylédons à l'état naturel, et après enlèvement des corps gras et autres solubles dans l'éther.

1° Dans la graine entière, la proportion d'eau = 10,8 0/0.

2° Dans l'endosperme seul 13,5 0/0.

3° Dans les cotylédons à l'état naturel 8,7 0/0.

4° Dans les cotylédons traités par l'éther dans un appareil SOXHLET pendant 6 heures. 8,6 0/0.

Le dosage de l'azote, effectué dans le même ordre, par le procédé KJELDAHL indique :

1° Dans la graine entière 2,22 0/0, soit pour le poids sec, en tenant compte de la proportion d'eau, 15,55 0/0 de matières albuminoïdes(1).

2° Dans l'endosperme seul, azote 3,81 0/0, albuminoïdes 27,5 0/0.

3° Dans les cotylédons. 7,72 0/0. 52,95 0/0.

4° Dans les cotylédons traités par l'éther 9,04 0/0. 61,8 0/0.

Qu'il nous soit permis, en terminant ce travail, de présenter nos remerciements à Monsieur le chanoine CARNOY, professeur de Biologie cellulaire et de Botanique, et à Monsieur BIOURGE, professeur de Chimie agricole, à l'Université de Louvain. Leur précieuse direction nous a été de la plus grande utilité.

(1) En multipliant par le facteur 0,25.

EXPLICATION DES FIGURES

Nos dessins ont été tracés à la chambre claire, en faisant usage d'objectifs nombreux, A, DD, J, 1/12 et apochromatique 1,30, 2 mm., de ZEISS. Nous noterons simplement le diamètre du grossissement.

FIG. 1. Section transversale de la graine. *s*, spermodermes; *end*, endosperme; *cc*, cotylédons. *G* : 10/1.

FIG. 2. Embryon isolé de la graine, vu à plat après enlèvement d'un des cotylédons. *r*, hypocotyle; *t*, tigelle; *c*, cotylédon sillonné de nervures, *n*. *G* : 10/1, réduit de moitié.

FIG. 3. Section longitudinale médiane d'une toute jeune graine, coupe microtomique montrant les diverses parties de la graine. *m*, micropyle; *ch*, chalaze; *fv*, faisceau vasculaire; *pr*, primine et son parenchyme, *p*; *s*, secondine; *eo*, épiderme ovulaire; *se*, place du sac embryonnaire. *G* : 50/1.

FIG. 4. Graine mûre. Coupe transversale dans la partie la plus large de la graine. Aspect des différents tissus à l'état naturel, dans le mélange de glycérine et d'alcool absolu. *c*, cuticule; *ep*, épiderme; *ll*, ligne lumineuse; *sc*, *e*, sclérécides externes; *sc*, *i*, sclérécides internes; *p*, parenchyme du spermodermes; *rn*, restes écrasés du nucelle; *ap*, assise protéique; *end*, *m*, endosperme mucilagineux; *end*, *par*, endosperme parenchymateux, écrasé; *cot*, cotylédon. *G* : 170/1, réduit au tiers.

FIG. 5. Cellules de l'épiderme, en coupe tangentielle, perpendiculaire au grand axe : *A*, à la hauteur de la ligne lumineuse, cavité cellulaire très réduite; *B*, en dessous de la ligne lumineuse, cavité cellulaire plus spacieuse; *D*, vue superficielle de la cuticule, chagrinée et cutinisée; *C*, mêmes cellules vues obliquement. *ll*, points d'épaississement à la hauteur de la ligne lumineuse, fortement colorés, après action momentanée de l'acide sulfurique et coloration par le bleu de méthylène. — Le graveur n'a pas tracé assez fidèlement les points d'épaississement. *G* : *A*, *B*, *D*, 450/1; *C*, 800/1.

FIG. 6. Spermodermes mûrs après l'action de KOH diluée ou de l'eau de javelle. *C*, restes de la cuticule disloquée par les acides, fortement cutinisés; *me*, arcades de la membrane épidermique engagées dans la cuticule; à l'intérieur se voient des granules et des bâtonnets d'oxalate calcique; *ep*, cellules en palissade; *ll*, ligne de lumière. Les autres lettres comme plus haut. *G* : 300/1.

FIG. 7. Coupe du spermodermes d'une graine développée, non mûre, pour faire voir les membranes non encore épaissies, sauf la membrane cuticulaire, à plusieurs couches visibles, *c. m.*, méats latéraux des scléréides; *n*, noyau; *p*, protoplasme. *G* : 220/1.

FIG. 8. Graine jeune (3 mm.), coupe transversale. *ti*, tégument interne de 2 à 3 assises cellulaires; *eo*, épiderme ovulaire dédoublé; *te*, tégument externe; *se*, *si*, scléréides externes et internes non épaissies, sans méats. *G* : 220/1.

FIG. 9. Graine jeune (5 mm.), coupe transversale. *fv*, faisceau vasculaire, avec hadrome vers l'intérieur et stéréome vers l'extérieur. *G* : 170/1.

FIG. 10. Vue superficielle de l'assise protéique de l'albumen mûr : membranes secondaires régulières, stratifiées. KOH à froid 1,2 heure. *G* : 320/1.

FIG. 11. Vue d'une portion du faisceau vasculaire et du tissu environnant à la maturité, en coupe transversale. *p*, parenchyme à membranes épaissies, canaliculées; *h*, hadrome; *l*, leptome; *st*, stéréome; *t*, caillot de tannin dans les cellules du parenchyme et du leptome. — L'un des deux traits de la gravure convergeant en *l* porte à faux sur l'hadrome. *G* : 220/1.

FIG. 12. Endosperme gonflé dans l'eau, pris dans une graine mûre. *l*, lignes formées par l'étirement; *mp*, lambeau de membrane primaire qui a persisté; *cc*, cavités cellulaires; *mm*, membranes mucilagineuses. *G* : 220/1.

FIG. 13. Membranes secondaires au bord interne de l'endosperme après l'action de la liqueur de SCHWEITZER ou du nitrate d'argent à 1 o/o. *mp*, membrane primaire; *ms*, membranes secondaires; *mt*, membrane tertiaire; *p*, ponctuation tapissée par la membrane tertiaire. *G* : 450/1.

FIG. 14. Cellules de l'endosperme mûr, après ébullition dans la potasse caustique. *t*, trabécules radiales et transversales de la membrane; en *a*, elles sont rompues et séparées de la membrane tertiaire, qu'elles devraient rejoindre partout ailleurs, si le graveur avait mieux saisi notre dessin; en *mp*, membrane primaire fortement gonflée, contenue de chaque côté par une lamelle de la membrane tertiaire, tapissant le fond de la ponctuation. La FIG. 17 représente beaucoup mieux la réalité. *G* : 600/1.

FIG. 15. Endosperme de graine en voie de maturité (8 à 12 mm.). *pr*, protoplasme contracté par l'alcool; *tr*, trabécules granuleuses, étirées, reliant le protoplasme aux membranes secondaires déjà formées, *ms*; *mp*, membrane primaire. *G* : 600/1.

FIG. 16. Graine de 8 mm ; portion interne de l'endosperme d'une préparation à la gélatine glycinée de KAISER. Même aspect que la FIG. 13. *G* : 600/1.

FIG. 17. Endosperme mûr, après un séjour prolongé dans l'eau alcoolisée; trabécules radiales et transversales des membranes secondaires comme dans la FIG. 14. *p*, protoplasme ratatiné; *h*, globules d'huile; *mp*, lambeau de membrane primaire. *G* : 600/1.

FIG. 18. Endospermé, plaques cribreuses après l'action prolongée de l'acide sulfurique ou du chlorure de zinc iodé. *G* : 450/1.

FIG. 19 Endosperme de la graine développée, non mûre, après l'action de l'iode + H_2SO_4 . *mp* et *mt*, membranes primaire et tertiaire, colorées en bleu vif; *ms*, ensemble des membranes secondaires en bleu pâle; *m*, méats formés par le clivage des membranes primaires, sous l'influence de l'acide. *G* : 450/1.

FIG. 20. Lambeau de protoplasme aréolé du sac embryonnaire, pris d'une graine toute jeune. *p*, protoplasme; *a*, aréoles. *G* : 520/1.

FIG. 21. Grains d'aleurone des cellules de l'endosperme, vues dans l'huile ou l'essence de térébenthine. *G* : 800/1.

FIG. 22. *p*, protoplasme; *n*, noyau d'une cellule de l'endosperme, après dissolution complète de l'aleurone; *h*, globules d'huile ou de graisse. *G* : 800/1.

FIG. 23 Aiguilles groupées de glucosazone obtenues dans la solution de mucilage de *Ceratonia*. *G* : 220/1.

FIG. 24. Petites aiguilles recueillies dans les eaux de lavage après action de la phénylhydrazine, commencement de sphéro-cristaux. *G* : 220/1.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	7
------------------------	---

PREMIÈRE PARTIE.

La graine du Caroubier au double point de vue histologique et cytologique.	9
I. <i>Primine</i>	9
II. <i>Secondine</i>	15
Tissu ovulaire et endosperme	18
I. <i>Tissu ovulaire</i>	18
II. <i>Endosperme</i>	19
État de la question.	19
Observations personnelles	22
Conclusions	32
Cotylédons	34

DEUXIÈME PARTIE.

Étude chimique de la graine du Caroubier	35
I. <i>Tégument de la graine</i>	35
II. <i>Contenu cellulaire de l'endosperme et de l'embryon</i>	39
III. <i>Analyse chimique des membranes mucilagineuses de l'endosperme</i>	42
§ 1. Analyse qualitative	42
§ 2. Analyse quantitative	48
Conclusions	52
Dosage de l'azote	53
Explication des figures	55

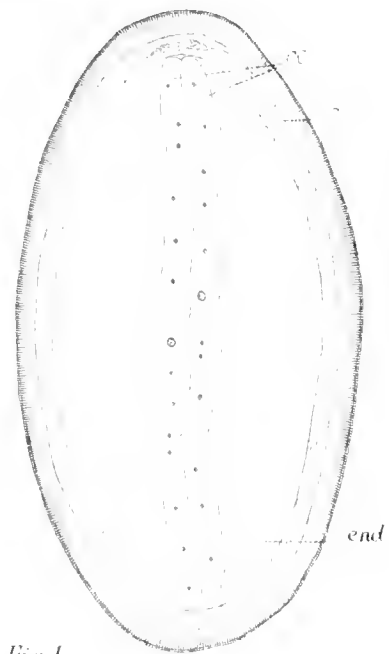


Fig 1

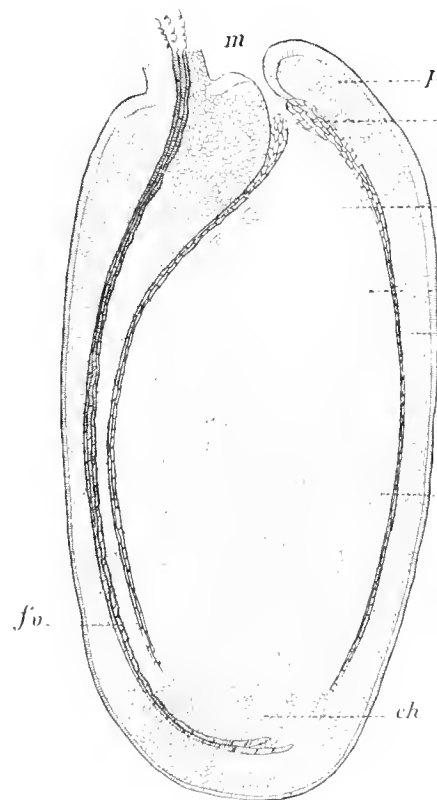


Fig 3

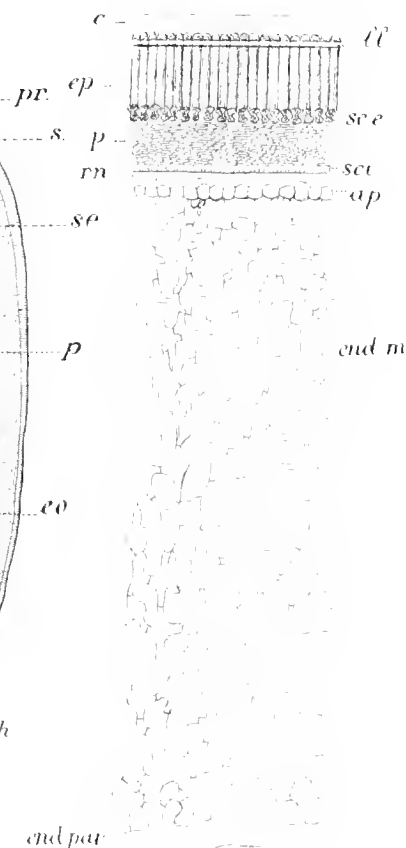


Fig 4

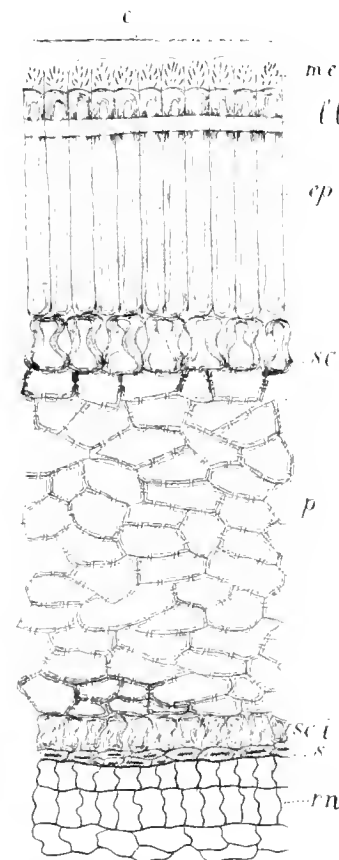


Fig 6

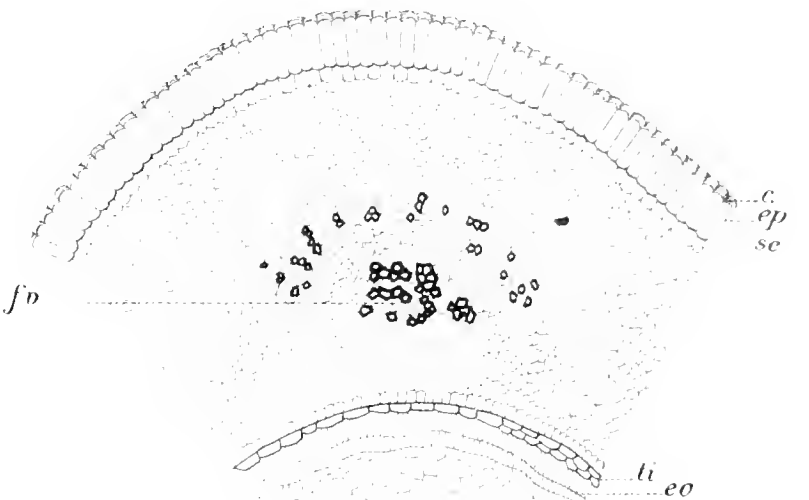


Fig 9

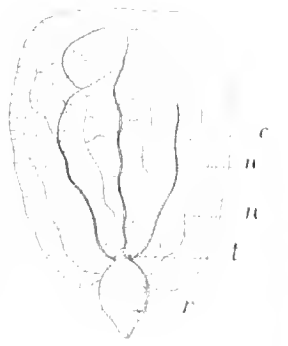
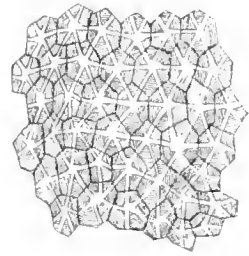
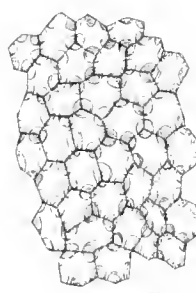


Fig 2



A



B

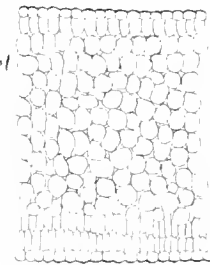


Fig 10

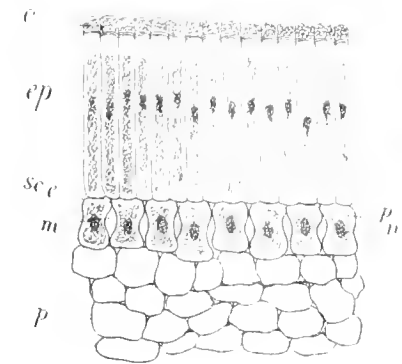


Fig 7

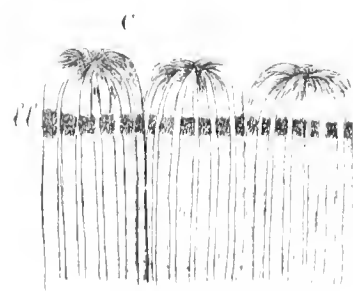


Fig 5



D

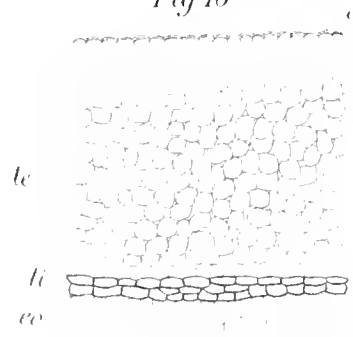


Fig 8



Fig 11

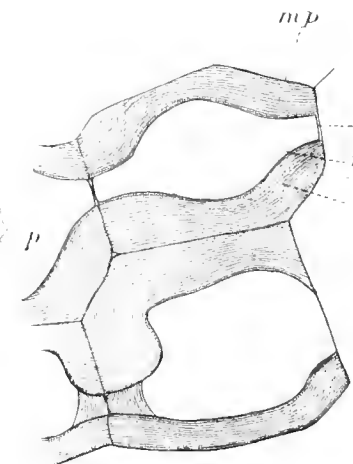


Fig 13

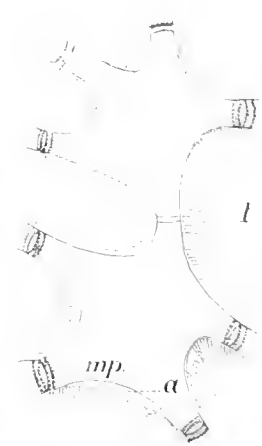


Fig 14

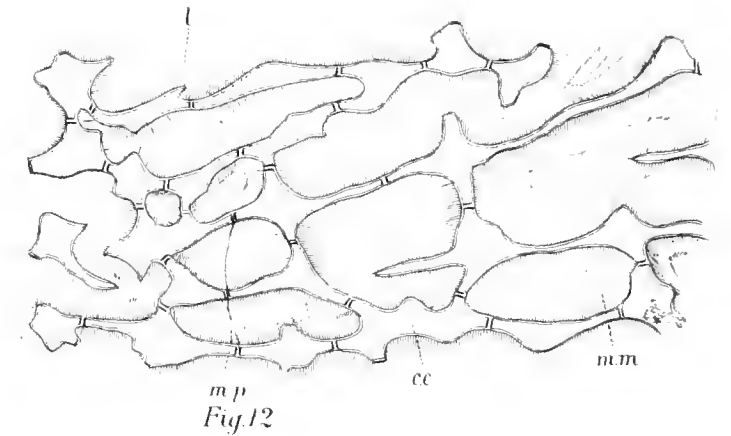


Fig 12

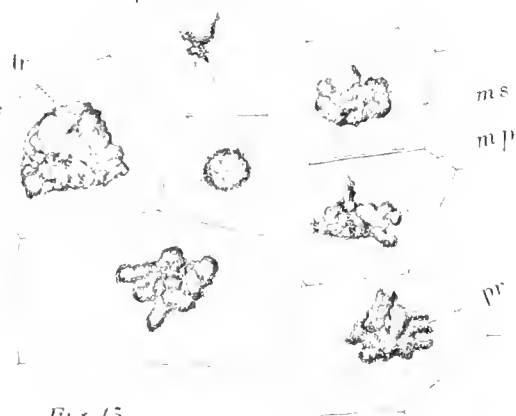


Fig 15

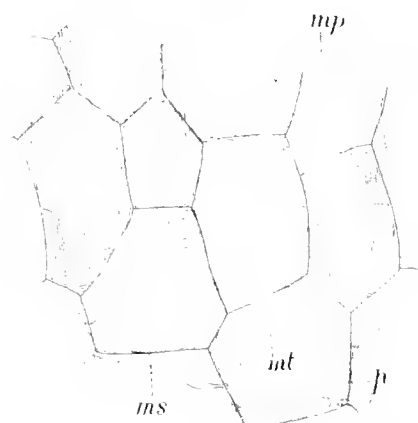


Fig 16

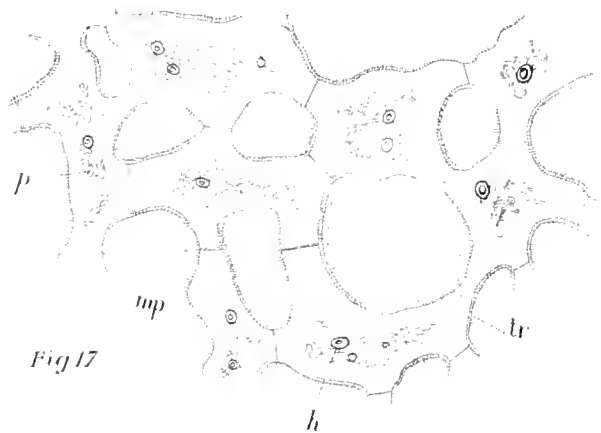


Fig 17

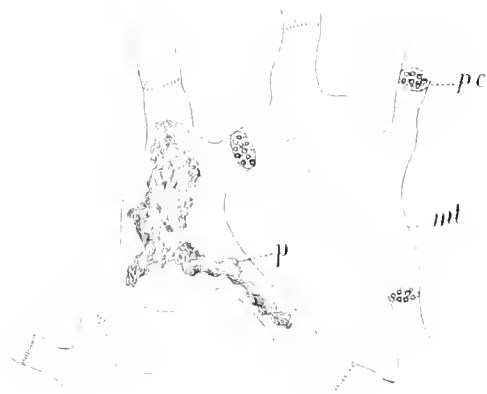


Fig 18

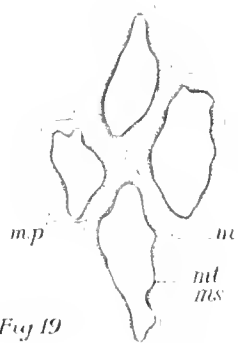


Fig 19

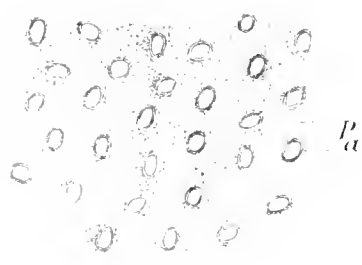


Fig 20



Fig 21

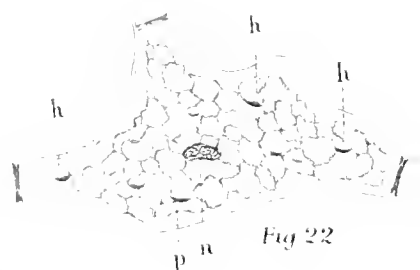


Fig 22



Fig 23

Fig 24

LA FÉCONDATION

CHEZ

L'ASCARIS MEGALOCÉPHALA

PAR

J. B. CARNOY & H. LEBRUN

Mémoire déposé le 15 avril 1897.

LA FÉCONDATION CHEZ L'ASCARIS MEGALOCEPHALA

Dans un travail récent⁽¹⁾, nous nous sommes permis de contester l'existence d'un nouvel élément permanent de la cellule : soit archoplasme ou sphère attractive, soit centrosome ou corpuscule polaire, et de déclarer non fondée la théorie de la fécondation émise par BOVERI et acceptée aujourd'hui par la plupart des savants.

Celui qui aura bien voulu nous lire aura pensé, sans doute, que nous ne parlions pas à la légère, que nous avions par devers nous un nombre suffisant d'observations pour appuyer nos contestations.

C'est à la suite de leurs recherches sur l'*Ascaris megalocephala*, que VAN BENEDEN et BOVERI ont émis leurs idées nouvelles. Pour les contrôler, nous avons jugé utile de faire porter nos observations sur le même animal, dont l'étude nous était du reste familière, afin de rendre notre critique plus serrée et plus précise dans ses détails, en suivant pas à pas nos devanciers, et plus aisée, la constatation des causes qui auraient pu les induire en erreur.

Nous avons résumé dans le présent mémoire les principaux résultats auxquels nous sommes arrivés par ce travail de révision.

(1) J. B. CARNOY et H. LEERUN : *La vésicule germinative, etc., des batraciens*; La Cellule, t. XII, 1897.

CHAPITRE I.

Matériaux et méthodes.

§ 1.

Méthodes antérieures.

Nous sommes persuadés depuis longtemps que la grande différence des résultats obtenus par les observateurs est due moins à la diversité qu'à l'infidélité des réactifs employés et à l'insuffisance des modes de préparations; aussi, avons-nous tenu à contrôler d'abord les méthodes de nos prédécesseurs.

I. Les premiers observateurs ont employé les solutions *fixatrices* couramment en usage : le liquide de FLEMING ou de HERMANN, l'acide nitrique, l'alcool sulfureux, la liqueur de GILSON; mais on ne tarda pas à s'apercevoir que, si elles fixent les œufs à coque mince, les plus âgés, dont la coque est épaissie, résistent pendant de longues heures et peuvent y rester vivants pendant un jour et plus. Ce n'est qu'à la longue qu'elles pénètrent et, entretemps, les œufs se trouvent dans des conditions anormales. CARNOY introduisit alors le mélange d'alcool et d'acide acétique, dans la proportion de 3 parties d'alcool pour 1 partie d'acide; et ensuite, le réactif au chloroforme : composé de 6 parties d'alcool absolu, 1 partie d'acide acétique glacial et 3 parties de chloroforme. L'action de ces réactifs, surtout du dernier, est beaucoup plus rapide. Quand on les fait agir sur le contenu dissocié des oviductes, tous les œufs sont fixés après 10 minutes de contact, à la condition de renouveler souvent le liquide. L'acide acétique ramollit la membrane et facilite la pénétration du fixateur, le chloroforme anesthésie et hâte beaucoup la mort de l'œuf, en même temps qu'il renforce l'action fixatrice de l'alcool.

Ce sont ces réactifs, modifiés au gré de chacun, qu'on a surtout employés depuis; malheureusement ces modifications n'ont pas toujours été heureuses.

VAN BENEDEN se sert d'un mélange d'alcool et d'acide acétique, à parties égales, voire même d'acide acétique pur. Employé dans ces proportions, l'acide acétique désorganise la cellule; il confond les éléments du protoplasme en une masse quasi homogène. VAN BENEDEN lui-même en convient.

En outre, il la vacuolise en y introduisant une grande quantité d'eau. Enfin l'acide gonfle l'élément nucléinien, le désagrège, et peut même dissoudre une partie de la nucléine. Impossible d'étudier les fins détails cellulaires après un pareil traitement. Ces réactifs sont anticytologiques. Au surplus, ils sont loin de tuer les œufs assez rapidement, pour qu'ils ne subissent pas de modifications internes.

HERLA a donc eu raison d'abandonner la méthode de son maître. La solution acétique dont il s'est servi se rapproche de celle de CARNOY; elle renferme 1 partie d'acide acétique seulement pour 3 parties d'alcool absolu. Ce réactif ne tue pas aussi rapidement et fixe beaucoup moins bien que la liqueur au chloroforme. HERLA a eu tort d'enlever l'anesthésiant.

Il faut dire la même chose de l'alcool acidulé de 1 pour cent d'acide acétique, employé par BOVERI.

Ce dernier auteur se sert aussi d'un autre réactif : la liqueur picro-acétique, composée d'une solution d'acide picrique concentrée, additionnée de 1 o/o d'acide acétique. Il l'emploie à chaud, 70°. Les œufs y séjournent pendant quelques instants, puis pendant 24 heures dans le même liquide à froid.

Nous avons fait de nombreux essais avec cette méthode et elle nous a donné des résultats détestables. Quand on plonge un oviducte entier dans la solution chauffée, le contenu liquide de l'oviducte se coagule rapidement autour des œufs, et on serait tenté de croire que tout est tué, après une demi-minute. Mais il n'en est pas ainsi. Car, si l'on dissocie un fragment, on est tout étonné de voir qu'aucun des œufs à coque épaisse n'est fixé. En prolongeant l'action du réactif à chaud jusqu'à pénétration, l'effet est instantané, mais désastreux. Tout se ratatine, se déforme; une rétraction intense se produit. Laissés à froid dans le fixateur, les œufs y vivent facilement 18 à 24 heures et plus, et se vacuolisent outre mesure.

Le matériel qui a servi aux études de BOVERI est donc tout à fait défectueux.

KULTSCHISKY a ajouté, comme CARNOY, un anesthésiant à l'alcool acétique : l'éther. Les résultats qu'il a obtenus sont meilleurs : à preuve, ce qu'il écrit sur les sphères attractives et les modifications que subit le corps du spermatozoïde dans l'œuf.

KOSTANECKI et SIEDLECKI, outre les réactifs déjà mentionnés : l'acide nitrique, l'acide picro-acétique, etc., ont employé également le sublimé, seul ou mélangé avec l'acide nitrique (3 o/o), ainsi que la liqueur suivante : sublimé, 1 vol.; alcool absolu, 1 vol.; acide nitrique (3 o/o), 1 vol., celui-ci pouvant être remplacé par l'acide acétique.

Ils laissent les objets entiers pendant 24 heures dans ces solutions.

D'après nos expériences sur des objets traités par l'acide nitrique, par le sublimé, ou un mélange des deux, les œufs restent vivants pendant 12 heures et plus. En outre, si on les laisse 24 heures dans ces réactifs, ils deviennent très vacuoleux. La liqueur composée d'alcool, d'acide nitrique et de sublimé, est meilleure de beaucoup : l'alcool ajoute son action fixatrice à celle du sublimé pour combattre l'action hydrolisante de l'acide nitrique ou de l'acide acétique. Néanmoins, les œufs n'y sont pas tués assez rapidement et, après 24 heures de séjour, ils se vacuolisent encore, moins cependant que dans les liqueurs précédentes. Les doses d'alcool et de sublimé sont beaucoup trop faibles, en l'absence de chloroforme.

On doit adresser les mêmes reproches à plus forte raison aux réactifs dont se sert von ERLANGER, puisqu'ils ne contiennent pas de sublimé. Outre l'acide picro-acétique, il emploie la liqueur de PERENYI; l'alcool acétique : 80 p. d'alcool à 95 et 20 d'acide acétique; l'alcool nitrique : alcool fort, 95 p., acide, 5 parties. Les œufs peuvent vivre très longtemps dans tous ces milieux; ensuite, ils se remplissent d'eau et de vacuoles sous l'influence des acides nitrique et acétique. Le grand défaut de tous ces réactifs, c'est de manquer d'un fixateur vif et énergique capable de combattre l'action osmotique des acides.

En résumé : aucun des réactifs employés jusqu'ici dans l'étude de la segmentation ne tue instantanément les œufs ou, tout au moins, ne les tue assez rapidement, pour qu'aucune modification ne puisse se produire dans le cytoplasme et les figures de division, toujours si sensibles aux excitations chimiques. On ne peut donc jamais avoir la certitude que ce que l'on voit correspond à la réalité. Et, de fait, plusieurs auteurs ont décrit comme normales des choses qui ne le sont pas.

En second lieu, les réactifs employés jusqu'ici ou bien sont désorganisans : tels l'acide acétique et les liqueurs où il prédomine, telle aussi la liqueur picro-acétique; ou bien, ils introduisent dans le cytoplasme et dans le noyau des corps avides d'eau, qui soutirent celle-ci du milieu extérieur pour l'introduire dans l'œuf et le vacuoliser : il en est ainsi de toutes les liqueurs nitriques, acétiques, dont nous avons parlé, et de la liqueur de PERENYI. Cette vacuolisation a de graves inconvénients, surtout dans l'étude de la division. Car, elle modifie la structure du protoplasme, son ordonnance générale, altère les figures cinétiques, gonfle les éléments nucléiniens, dérange les pronucléi et fausse leurs rapports, etc., etc.

Disons-le franchement, il serait difficile de faire des observations cytologiques sérieuses à l'aide de matériaux préparés par de semblables réactifs; on doit nécessairement commettre méprises sur méprises. Le lecteur ne s'étonnera pas si, dans ce travail de révision que nous avons entrepris, nous sommes obligés de nous séparer constamment de nos prédécesseurs.

On a eu le grand tort d'abandonner le chloroforme; il eut fallu au contraire en augmenter la dose. La présence de ce corps est très utile; il renforce l'action fixatrice de l'alcool; il anesthésie le protoplasme, le rend immobile⁽¹⁾ et l'empêche ainsi de donner naissance à des figures anormales depuis l'entrée des réactifs jusqu'à sa mort. Il hâte, du reste, beaucoup celle-ci, comme tous les anesthésiants à haute dose. Étant très peu avide d'eau, aussitôt qu'il a pénétré dans la cellule il combat l'action osmotique des acides; il empêche la vacuolisation. Grands sont donc les avantages qu'il procure, surtout pour l'étude des cellules en cinèse.

II. Les méthodes employées par les auteurs pour la *confection* et l'*examen* des préparations ne sont pas non plus à l'abri de tout reproche.

VAN BENEDEN, BOVERI se sont contentés de la dissociation sur porte-objets et de l'inclusion dans la glycérine aqueuse.

La dissociation est insuffisante pour l'étude de la fécondation et de la segmentation; il faut aussi recourir aux coupes, comme on le verra plus loin. Enfin, la glycérine est un des plus mauvais milieux qu'on puisse employer dans l'examen des œufs, principalement si ceux-ci ne sont pas momifiés par un fixateur énergétique. Sans parler de sa tendance à rendre les œufs homogènes et empêcher l'œil d'y saisir les fins détails, la glycérine, par son pouvoir osmotique très élevé, renforce encore l'attraction des acides pour l'eau; la cellule se gorge, et se remplit de vacuoles, souvent de grande dimension, qui la mettent en désordre. Il n'est pas étonnant que les œufs aient paru à KOSTANECKI plus volumineux dans la glycérine que dans le baume.

KULTSCHITSKY, qui s'est servi aussi exclusivement de la dissociation, a évité l'inconvénient de la glycérine; il a inclus ses préparations dans le baume: c'est beaucoup mieux, à condition de déshydrater lentement et avec précaution.

KOSTANECKI et ERLANGER ne se sont plus contentés de la dissociation; ils ont aussi débité en coupes les objets enrobés dans la paraffine. Bien qu'ils se soient servis du baume, ils ont aussi examiné des préparations dans

(1) Voir ce qui a été dit à ce sujet dans notre précédent travail sur la *Vésicule des batraciens*, p. 202.

la glycérine et ne se sont pas mis assez en garde contre son influence nuisible sur la structure des œufs. Il suffit de jeter un coup d'œil sur les planches et les photographies de ces auteurs pour se convaincre que leurs œufs ont été dégradés et remplis de vacuoles accidentelles. Celles-ci sont l'œuvre de leurs réactifs fixateurs et, éventuellement, de la glycérine.

§ 2.

Nos méthodes.

Nous nous sommes servis d'animaux bien vivants, transmis directement de l'abattoir à notre institut.

Pour l'étude des stades antérieurs à la segmentation, les oviductes ont été fixés en entier, soit par la liqueur de GILSON, soit par l'alcool acétique additionné de chloroforme, soit par le nouveau réactif qui sera indiqué plus loin. Nous en reparlerons à propos des globules polaires.

Notre but étant surtout d'étudier les premières segmentations; nous avons dû nécessairement mettre les œufs en culture. Voici comment nous avons procédé.

Aussitôt l'animal ouvert, nous jetons une ligature sur l'utérus et une autre sur chaque branche de l'oviducte, à environ 5 centimètres au-dessus de l'endroit de leur réunion; nous sectionnons le fragment compris entre ces différents points et nous le portons à la couveuse, 38 degrés, dans un cristalliseur rempli d'eau salée physiologique. Si l'on ne prend la précaution de faire les ligatures, les oviductes, en se contractant, déversent tout leur contenu dans le liquide par les ouvertures béantes. De deux en deux heures, on fixe un ou plusieurs oviductes, afin d'avoir à sa disposition un matériel abondant à tous les stades de la segmentation.

Fixation. Nous avons été obligés de nous mettre à la recherche de meilleurs fixateurs et de meilleurs modes de préparation que ceux de nos prédécesseurs.

C'est le réactif au chloroforme qui a servi de point de départ à nos essais.

Nous avons cherché, en le modifiant ou en l'associant au sublimé, d'en faire un réactif approprié à la fixation et à la conservation intégrale des œufs munis de leur *coque dure et solide*. Après de longs tâtonnements, nous nous sommes arrêtés à la formule suivante, qui est due à M. GILSON :

Alcool absolu	1 volume.
Acide acétique glacial	1 -
Chloroforme	1 -
Sublimé corrosif, jusqu'à saturation.	

Nous n'avons pas besoin d'insister sur les mérites de cette solution. Nous connaissons les avantages du chloroforme qu'elle renferme. Sa haute teneur en sublimé corrige l'action de l'acide acétique, dont les autres éléments sont impuissants à modérer le gonflement qu'il provoque. Il conserve les corpuscules dans leur intégrité. Enfin, il fait disparaître ou du moins altère profondément les granules vitellins, au point qu'ils ne se colorent plus par l'hématoxyline ferrique; ce qui facilite beaucoup les recherches.

Sur porte-objets, après dissociation, l'effet de ce fixateur est presque instantané; la coque résiste à peine 25 à 30 secondes. Mais nous ne l'avons guère employé de cette manière, à cause de la difficulté du lavage et de l'impossibilité d'appliquer ensuite la méthode de coloration d'HEIDENHAIN.

Nous avons en vue surtout de débiter les œufs en coupes minces, afin de saisir mieux la fine structure des figures de division et la succession des différents stades de la cinèse, et d'élucider, si possible, l'histoire des centrosomes. C'est pourquoi nous avons fixé les oviductes entiers.

Nous les plongeons dans le fixateur, en ayant soin d'y faire préalablement de nombreuses entailles pour hâter la pénétration du réactif. On peut faire ces entailles impunément, sans craindre de voir s'échapper les œufs, car la solution agglomère fortement ceux-ci.

L'oviducte surnage pendant quelque temps dans la solution; mais, après 10 minutes environ, il descend au fond du récipient; à ce signe, on reconnaît qu'il est complètement imprégné du mélange et que la fixation s'est produite jusque dans la profondeur de l'objet.

En sortant du fixateur, les oviductes sont lavés à l'alcool et à l'eau, jusqu'à ce que la moindre odeur d'acide acétique ait disparu, et passés par des alcools de force croissante jusqu'à l'alcool à 80°, dans lequel ils sont conservés.

Enrobage. Nous avons essayé aussi plusieurs méthodes d'enrobage, par la paraffine et la celloïdine.

Nous devons condamner d'une manière absolue tout enrobage à la paraffine fait à une température supérieure à 50°. Il n'est pas d'objet, à notre connaissance, qui souffre aussi facilement de la chaleur que les œufs des nématodes.

Nous employions, depuis plusieurs années, une méthode d'enrobage à la paraffine, très voisine de celle préconisée dernièrement par KOSTANECKI, et que nous avons exposée dans notre précédent travail sur l'œuf des batraciens (1). Nous nous permettons d'y renvoyer le lecteur. Le temps de séjour dans la paraffine fondue doit encore être plus court que pour les œufs de batraciens : 1 min. à 1 min. 1/2 au maximum. On débite les coupes dans un endroit frais.

On obtient ainsi de bonnes préparations. Néanmoins la chaleur est toujours nuisible, en provoquant, quoi qu'on fasse, un ratatinement assez considérable dans les œufs. Nous avons obtenu des résultats bien supérieurs par l'enrobage à la celloïdine, d'après la méthode de SCHIEFFERDECKER.

Après avoir débarrassé les œufs agglutinés en cylindre dans l'oviducte, on coupe ce cylindre en morceaux de 2 cent. de longueur, qu'on fait passer successivement dans l'alcool absolu, dans un mélange d'alcool absolu et d'éther, à parties égales : 1 heure pour chaque milieu. On les porte ensuite dans une solution de collodion, diluée de moitié dans le mélange précédent, où ils restent 15 jours au moins. Après ce temps seulement, le collodion a pénétré à travers la coque jusqu'aux sphères ovulaires. On les laisse 15 jours encore dans une solution de collodion ordinaire, 15 jours dans du collodion duplex, et, enfin, on les introduit dans la celloïdine pure, de consistance tremblotante.

On laisse la celloïdine durcir par évaporation lente, jusqu'à ce que la pression de l'ongle n'y laisse plus de traces. Les procédés de durcissement rapide ne nous ont pas donné de résultats aussi favorables.

Les blocs de celloïdine coupés en forme de petite pyramide tronquée, à base notablement plus large que le sommet, sont appliqués bien secs sur un petit cube de bois, au moyen d'une couche de paraffine fondue. Les coupes, de six à dix μ , étaient faites sous l'alcool à 80°.

Il arrive souvent que le collodion n'a pas pénétré dans la coque des œufs; ceux-ci s'échappent alors dans le liquide par les ouvertures que le rasoir a faites dans les membranes. C'est un inconvénient qu'on surmonte facilement en étendant, après chaque coupe, une couche très mince de collodion ordinaire sur la surface de section bien séchée.

Coloration. Nous avons essayé une foule de colorants : safranine, Wasserblau, vert de malachite, vert de méthyle et fuchsine, hématoxyline

1 J. B. CARNOY et H. LEBRUN : *La vésicule germinative des batraciens*; p. 214.

alunée et rouge congo, etc. L'hématoxyline alunée très diluée, avec différenciation par l'acide picrique, nous a donné de bonnes colorations. Mais aucune de ces méthodes ne nous a fourni des résultats comparables à ceux qu'on obtient avec l'hématoxyline au fer de HEIDENHAIN, seule ou combinée avec le rouge congo et le rouge bordeaux.

On mordance les coupes dans l'alun de fer à 2 1/2 pour cent en les y laissant de 3 à 5 h. et, mieux encore, jusqu'à 24 h. On les lave pendant quelques instants, 1 minute environ, dans de l'eau courante pour les débarrasser de l'excès d'alun et éviter le précipité noir abondant qui se produit au contact de l'hématoxyline. Les coupes séjournent ensuite pendant 24 heures dans l'hématoxyline. On les décolore alors *prudemment* par le mordant, jusqu'à ce que, les coupes étant placées dans l'eau, l'œuf teinté de jaune laisse apercevoir l'élément nucléinien coloré en noir. On saisit rapidement, après quelques tâtonnements, le degré auquel il faut s'arrêter; mais il faut s'astreindre à surveiller la décoloration de chaque coupe sous le microscope. On lave les coupes dans l'eau, abondamment renouvelée, pendant 1/2 heure à 1 heure, pour enlever toute trace d'alun; sinon, lorsqu'on veut les monter dans la colophane, il se produit instantanément un précipité de cristaux d'alun, au moment où l'on emploie l'alcool. Ce précipité est très gênant et difficile à éloigner; on y arrive pourtant par des lavages prolongés, mais alors la coloration perd de son intensité.

Les coupes passent successivement dans les alcools forts; on les laisse se ramollir pendant quelque temps dans l'alcool absolu, et on les place ensuite dans une goutte d'essence de cajeput, déposée au préalable sur le slide. La celloïdine achève de s'y dissoudre et l'on monte alors dans la colophane. Nous avons employé l'essence de cajeput de préférence à d'autres, pour plusieurs motifs. D'abord, elle supporte assez bien d'eau; ensuite elle dissout la celloïdine lentement, tandis que les autres la dissolvent trop rapidement ou bien la raccornissent. Le xylol, par exemple, est funeste; il éclaireit rapidement, il est vrai, mais les coupes se recoquillent et l'on parvient difficilement à les monter convenablement; le couvre-objets se soulève et l'on doit laisser une trop grande quantité de résine sous ce dernier. Cette couche de résine épaisse donne aux objets une réfringence trop grande, et rend souvent impossible l'emploi des objectifs apochromatiques, qui sont absolument nécessaires pour notre étude.

Après la méthode de coloration d'HEIDENHAIN, il est quasi impossible de faire la moindre observation délicate dans un milieu aqueux ou glycéринé.

Les doubles colorations sont utiles pour l'étude du protoplasme et du fuseau, mais après le mordantage prolongé (24 h.) auquel nous soumettons les objets, le réticulum garde une teinte gris-jaunâtre qui fait déjà très bien ressortir toutes les finesses de structure de la cellule en division.

L'hématoxyline au fer est un réactif précieux entre tous, et qui est indispensable pour l'étude des corpuscules.

Nous avons reconnu par nos observations que ce réactif n'est pas spécifique pour les corpuscules. Tous les composés nucléiniens⁽¹⁾ en général, se colorent en noir sous son influence : les paranucléines, aussi bien que les nucléines, et il en est de même de leurs composés avec les albumines; les plastines seules font exception et restent incolores. Nous pouvons inférer de là que c'est à la présence d'un composé nucléinien que les nucléoles et les corpuscules des *Ascaris* doivent de se colorer en noir; nous croyons, sans en avoir la certitude, que ce composé est une combinaison spéciale de l'acide paranucléinique avec une albumine. C'est pourquoi nous avons affirmé récemment⁽²⁾ que, outre la globuline et la plastine, les nucléoles plasmatiques renfermaient vraisemblablement une nucléo-albumine.

Néanmoins, malgré qu'il ne soit pas spécifique des corpuscules, comme l'affirme VON ERLANGER, il n'en est pas moins leur pierre de touche incomparable. *Tous les autres colorants sont tout à fait insuffisants* pour permettre à l'observateur de les suivre aux diverses étapes de la cinèse, d'en saisir l'origine et la disparition; en un mot, de faire leur histoire. Nous ne saurions assez remercier M. BOLLES LEE pour les indications si précises et si détaillées qu'il a bien voulu nous fournir au sujet de son emploi, grâce auxquelles nous avons pu procéder à coup sûr et sans perte de temps.

Figures. Un mot, pour finir, sur nos dessins.

Nous avons représenté les œufs tels qu'ils sont après l'action de notre réactif, en les dessinant autant que possible à la chambre claire. Nous y avons mis du temps: néanmoins nous approchons à peine de la réalité. Le réseau de ces œufs est admirable de finesse et de régularité; il est impossible de le copier exactement. Sur la PL. I, on l'a reproduit en diminuant notablement le nombre de petits granules enchylémateux qui courent ou

(1) J. B. CARNOY et H. LEBRUN : *La vésicule germ. et les globules pol. chez les batraciens*; La Cellule, t. XII, p. 197.

(2) Ibidem, p. 195.

sont collés sur les trabécules; sur la PL. II, les granules s'y trouvent. Mais l'artiste qui a gravé cette planche n'a pas assez accentué les trabécules et n'est pas parvenu à donner du relief aux figures; tout y est trop sur un même plan. La première planche donne une meilleure idée du réticulum.

Nous avons dû nous astreindre à ce travail minutieux par la nature même des choses. Il fallait indiquer exactement *a*) ce qui existe dans le cytoplasme, aux différents stades du développement de l'œuf, depuis la formation du second globule polaire, et *b*) l'état dans lequel il se trouve durant les deux premières cinèses et la période de repos qui les sépare. De même pour les noyaux. Sans cela nous n'eussions pas été compris, et le lecteur eût pu contester nos observations.

C'est d'ailleurs un devoir pour les cytologistes de faire suivre leurs observations de figures exactes et dessinées dans tous les détails; surtout lorsqu'il s'agit de structure intime, de cinèse et, par dessus tout, de fécondation. Nous ne pouvons attribuer grande valeur aux figures en lavis, telles que celles de VAN BENEDEN, HERLA, BOVERI, etc. Celles de KOSTANECKI sont meilleures, mais très insuffisantes également; car, les rapports entre les divers éléments du cytoplasme pendant la cinèse ne sauraient y être devinés. Quant aux photographies, elles sont utiles dans un cas particulier: pour montrer un centrosome dans un noyau, par exemple; pour le reste, elles sont indéchiffrables et d'une confusion parfaite au point de vue cytologique: personne ne nous démentira, qui aura vu les planches de VON ERLANGER. Quant aux figures schématiques, telles que celles de la planche VI de VAN BENEDEN et NEY, leur place pourrait être dans un ouvrage didactique; mais elles manquent de valeur objective dans un travail de recherches scientifiques: elles reflètent trop les idées de l'observateur, qui peuvent être bien éloignées de la réalité.

CHAPITRE I.

Les corpuscules et les asters des cinèses polaires.

BOVERI nie l'existence des corpuscules et des asters dans les cinèses polaires. La plupart des auteurs ont adopté sa manière de voir et, aujourd'hui encore, malgré certaines protestations autorisées, on continue à s'appuyer sur l'opinion de BOVERI pour propager cette double erreur. C'est ainsi que, tout récemment, SOBOTTA(1) n'a pas hésité à formuler quasi comme des axiomes les trois propositions suivantes :

a) Il n'y a pas de centrosomes dans les figures polaires.

En conséquence, dans ces figures :

b) Il n'y a pas d'asters véritables, c'est-à-dire dont les rayons aboutissent à un centre commun ;

c) Les filaments du fuseau ne convergent jamais en un point, ils demeurent sensiblement parallèles et se terminent soit librement, soit dans une sorte de plateau.

Telles sont, conclut-il, les différences fondamentales qui existent entre les cinèses polaires et les cinèses ordinaires, et ces différences résultent exclusivement de la présence ou de l'absence de centrosome.

S'il en est ainsi, il nous suffira de montrer que les centrosomes existent également dans les cinèses polaires, pour renverser la barrière que SOBOTTA veut élever entre les deux sortes de divisions.

Cette tâche n'est pas difficile.

En 1892, H. LEBRUN(2) a annoncé, dans une note succincte, la découverte des corpuscules dans les cinèses polaires de l'*Ascaris megalocephala*. Son observation n'est pas restée isolée. VOM RATH(3), HAECKER(4), SALA(5), v. ERLANGER(6) ont retrouvé ces corpuscules. SALA les a décrits et figurés.

(1) SOBOTTA : *Die Reifung und Befruchtung der Wirbelthiere*; Ergebnisse d. Anat., etc., B. V., 1895.

(2) H. LEBRUN : *Les centrosomes dans l'œuf de l'Asc. meg.*; Anat. Anz., VII. Jahrg., 1892, p. 627.

(3) VOM RATH : *Ueber d. Constanz d. Chromosomenzahl*, etc.; Biol. Centr., B. XIV, note de la p. 467.

(4) HAECKER : *Ueber d. heut. Stand d. Centrosomenfrage*; Verh. d. deutsch. zool. Gesellsch., 1894.

(5) K. SALA : *Exp. Untersuch. über die Reifung und Befruchtung der Eier*; Arch. f. mikr. Anat., B. 44, p. 422.

(6) v. ERLANGER : *Beiträge z. Kenntniss d. Struct. d. Protopl. und d. Centrosoms*; Arch. f. mikr. Anat., B. 49, 1897, p. 309.

Néanmoins, d'après SOBOTTA, tous ces observateurs se sont *certainement* trompés : - Die Angaben neuerer Autoren... dass sich doch an der Richtungsspindeln von *Ascaris* finden (Centrosomen), beruhen sicher auf Irrtümern - (1). Comme si les faits positifs signalés par un grand nombre d'observateurs distingués ne devaient compter pour rien devant une simple négation de BOVERI. C'est aller un peu loin.

Eh bien! il y a *certainement* des corpuscules dans les cinèses polaires de l'*Ascaris*.

Les auteurs, qui se sont occupés des corpuscules des globules polaires chez cet animal, ont constaté la présence à chaque pôle de la figure de deux à cinq granules colorables. SALA a recherché leur origine; il ne peut la préciser. Il suppose qu'ils pourraient bien provenir de la désagrégation en morceaux du nucléole à l'intérieur du noyau avant la cinèse, désagrégation semblable à celle qu'a décrite O. HERTWIG dans les spermatocytes. Seulement, il ajoute que les restes du nucléole, après s'être rapprochés de la membrane nucléaire, deviennent invisibles et qu'il est impossible de les suivre.

Nous ne nions pas la possibilité de la fragmentation nucléolaire. Mais les figures 2 et suivantes de SALA ne nous paraissent pas démonstratives. Nous connaissons depuis longtemps ces amas de granulations irrégulières, reliant le plus souvent les deux groupes de quatre bâtonnets, que figure SALA. D'après nos observations, ces granulations, aussi bien que celles qui ont été signalées par O. HERTWIG dans les spermatocytes, sont des restes de l'élément nucléinien qui n'ont pas été enrobés dans les huit bâtonnets, qui le seront peut-être plus tard, mais qui, en tout cas, disparaissent totalement avant la cinèse. Elles ne proviennent donc pas des nucléoles. Si ceux-ci se fragmentent, c'est *au moment même* de la cinèse; car jusque-là on constate aisément avec l'hématoxyline au fer la présence de deux gros nucléoles, parfaitement conservés dans leur forme et leur volume.

Exposons maintenant nos observations récentes.

Elles confirment pleinement les premières recherches de LEBRUN. Il y a des corpuscules bien évidents dans les deux figures des globules polaires.

En outre, ces figures sont munies d'asters.

(1) SOBOTTA : L. c., p. 514, en note.

I. *Corpuscules polaires*. Les phénomènes que nous avons observés étant identiques à ceux que nous devons décrire en détail plus loin, à propos de la segmentation, nous ne ferons que les indiquer brièvement.

A côté des deux groupes de quatre bâtonnets, on trouve dans la vésicule germinative de l'*Ascaris* deux petits corps sphériques, que VAN BENEDEN appelait pseudo-nucléoles, et que nous avons montré appartenir à la classe des nucléoles plasmatiques, c'est-à-dire des nucléoles vrais ou nucléoles proprement dits. Chez les *Ascaris*, ces nucléoles se comportent vis-à-vis des matières colorantes comme les corpuscules polaires; c'est ainsi, en particulier, qu'ils se colorent avec la plus grande facilité en noir d'ébène par l'hématoxyline au fer, et résistent à la décoloration autant que les corpuscules eux-mêmes.

Or, chez les *Ascaris*, ces nucléoles représentent les corpuscules de l'*ovocyte au repos*, FIG. 10.

Ceci demande quelques mots d'explication, par anticipation sur les chapitres suivants.

Il n'y a pas de centrosome dans le *cytoplasme* de l'ovocyte; on pourrait même dire qu'il ne peut y en avoir. Car les corpuscules qui ont servi à la dernière division des ovogonies, laquelle donne naissance aux ovocytes, ou œufs proprement dits, ont disparu depuis longtemps dans le cytoplasme de ces derniers. Aussi, la plupart des auteurs qui les ont recherchés ne les y ont point trouvés. Mais BOVERI, et beaucoup d'autres après lui, ont tiré de cette absence de centrosome dans le cytoplasme ovulaire des conclusions illégitimes et tout à fait erronées, dont nous ne mentionnerons que les suivantes pour le moment.

1° L'œuf est dépourvu de centrosome; c'est une cellule incomplète.

2° L'œuf diffère des cellules ordinaires par ce que son centrosome s'est dégradé ou dissous.

3° Il y a une différence fondamentale entre l'œuf et la cellule spermatique; car celle-ci possède dans son corps un centrosome actif qui produira la segmentation.

4° Les figures polaires n'ont pas de corpuscules, *parce que* le cytoplasme ovulaire en est dépourvu.

Reprenons chacune de ces conclusions.

1° De ce qu'il n'y a pas de corpuscule dans le cytoplasme ovulaire, il ne s'en suit nullement que l'œuf en soit dépourvu. En effet, ce n'est pas dans le cytoplasme que git ce corps dans les cellules quiescentes, ainsi que

nous le verrons plus loin, mais bien dans le *noyau*. Or, les corpuscules naissent très tôt dans le noyau ovulaire; — l'un de nous a signalé leur présence dans les œufs les plus jeunes, après la dernière division des ovogonies (1) — et ils y restent jusqu'au moment précis de la première cinèse polaire. Ainsi, à aucun âge, l'œuf n'en est dépourvu; il n'est donc pas de ce chef une cellule incomplète. La FIG. 10 montre ces deux beaux corpuscules.

2° La vérité est que le centrosome de division se dégrade dans toutes les cellules somatiques, aussi bien que dans l'œuf, et disparaît totalement dans le cytoplasme. L'ovocyte ne diffère donc nullement de ce chef des autres cellules au repos.

3° Il n'y a aucune différence entre l'œuf et la cellule spermatique. Pas plus que celui de l'œuf, le corps plasmatique du spermatozoïde ne renferme de centrosome. Celui-ci s'est évanoui totalement après la dernière division des spermatocytes; aussi c'est en vain qu'on scrute la jeune spermatide, même à l'aide de l'hématoxyline au fer, pour y déceler un corpuscule. C'est dans le noyau du spermatozoïde que se formeront les centrosomes actifs dont parle BOVERI.

4° Tout est faux également dans la dernière conclusion : l'antécédent et la conséquence. Il y a des corpuscules dans les cinèses polaires. Et, s'il n'y en avait pas, ce ne serait nullement parce que le cytoplasme en est dépourvu — il en est toujours et partout dépourvu, il n'y aurait donc de corpuscule dans aucune cinèse! — mais parce que le noyau n'en contiendrait pas. Or, celui-ci en possède toujours.

Il y a donc des corpuscules dans l'ovocyte de l'*Ascaris*, pendant tout son développement, mais c'est dans le noyau qu'ils résident.

Voyons ce qu'ils deviennent.

Au moment de la première cinèse polaire, ils sont généralement placés dans la vésicule, comme l'indique notre FIG. 10, c'est-à-dire qu'ils occupent la place des pôles du fuseau futur. Nous ne les avons pas vu sortir du noyau en perforant la membrane — phénomène que nous décrirons plus loin —, avant la formation du fuseau. Mais, lorsque la membrane nucléaire est résolue, on les trouve placés aux pôles du fuseau qui s'élabore, et ils y restent pendant tout le temps de la cinèse, ainsi que l'indique la FIG. 11.

(1) J. B. CARNOY : *La vésic. germ., etc. chez l'Asc. megaloc.*; p. 10.

Ils sont généralement plus petits que dans la vésicule ; nous dirons plus tard la raison de ce fait.

Assez souvent il n'y en a qu'un à chaque pôle, détail qui n'a pas été vu par SALA. Assez souvent aussi, on en trouve un d'un côté et deux de l'autre, FIG. 11, et alors ceux-ci sont généralement écartés, comme dans la figure. Enfin, il n'est pas rare non plus d'en voir trois, quatre, cinq et plus à chaque pôle ; ce sont les figures de ce genre qui ont été vues et mentionnées par les observateurs.

Lorsque le corpuscule est unique, il est beaucoup plus volumineux que lorsqu'il y en a plusieurs. Ce qui indique, nous semble-t-il, suffisamment que les corps multiples dérivent de la fragmentation du corpuscule primitif. D'ailleurs, plus ils sont nombreux, plus ils sont ténus. Nous ne pourrions dire si cette fragmentation a lieu aux pôles de la figure ou immédiatement avant la formation de cette dernière ; nous avons dit plus haut qu'elle n'avait pas lieu avant le moment de la cinèse.

Cette désagrégation du corpuscule n'a rien de surprenant. Car nous verrons bientôt que tout corpuscule est destiné à disparaître après la division à laquelle il a servi.

Les corpuscules existent aussi, sans nul doute, dans la figure du second globule : témoin la FIG. 12. Ils y présentent les mêmes particularités que dans la première cinèse. Mais nous n'avons pu découvrir leur origine. A en juger par ce qui se passe durant la segmentation, ils sont de récente formation et ne dérivent pas des anciens ; ceux-ci d'ailleurs, semblent disparaître rapidement, et nous avons vu que souvent déjà ils sont en voie de désagrégation dans la figure elle-même.

Les corpuscules de la seconde cinèse ne se maintiennent pas davantage. Ils doivent se dissoudre très tôt dans le cytoplasme, car nous les avons recherchés en vain au moment où le noyau femelle commence seulement à s'entourer d'une membrane, ou un peu plus tard ; on n'en trouve jamais à côté des jeunes noyaux.

Ainsi :

a) Les corpuscules ou centrosomes existent dans les deux cinèses des globules polaires, comme dans les cinèses ordinaires ;

b) Ils s'effacent sans retour avec la figure, comme dans ces dernières. Il n'y a donc pas d'*orocentre* dans le cytoplasme ovulaire, après l'expulsion du second globule.

II. *Asters.*

Il y a longtemps que l'un de nous a décrit les asters des figures polaires de l'*Ascaris* et d'autres nématodes, en utilisant des objets aussi frais que possible et traités par un grand nombre de fixations, dont plusieurs tuent les œufs presque instantanément et momifient sur l'heure les figures cinétiques, sans trop les altérer (1). Nous n'avons pas l'intention d'entrer de nouveau en discussion avec BOVERI, HERTWIG, SALA, SOBOTTA, etc., et en général avec ceux qui nient encore l'existence des asters dans ces figures, ou qui les considèrent comme des productions pathologiques, dans tous les cas et sans distinction. Nous nous contenterons de donner ici deux nouvelles figures, FIG. 11 et 12, recueillies sur des matériaux récents, transmis directement de l'abattoir de Louvain à notre institut, et fixés de suite par la liqueur de GILSON et notre nouveau réactif au chloroforme et au sublimé.

Les asters y sont évidents. Leurs nombreux rayons, d'une délicatesse extrême, descendent latéralement des bords du plateau fusorial et viennent se croiser à l'équateur en se perdant dans le réseau cytoplasmique. Tout le monde sait que la plupart des fuseaux, chez l'*Ascaris*, sont tronqués, terminés qu'ils sont par deux plateaux, dans lesquels se terminent séparément les filaments. Ceux-ci ne convergent pas vers un point commun, pas plus que les rayons astériens. Malgré la présence d'un centrosome, il n'y a ni aster ni fuseau véritables, dans le sens de SOBOTTA. Il n'existe donc aucun rapport nécessaire entre le centrosome et le centrage des radiations astériennes et fusoriales. Le raisonnement de SOBOTTA était donc vicieux.

Certes, toutes les figures d'une même préparation ne portent pas des asters aussi caractérisés que ceux des FIG. 11 et 12. Mais il est aisé d'en saisir des vestiges évidents sur un très grand nombre d'entre elles. Leurs rayons sont d'une grande finesse et très altérables. Ensuite, les œufs d'*Ascaris*, à cet âge, sont très vacuoleux, surtout près des figures; il n'est pas rare d'y rencontrer des fuseaux qui sont suspendus à de simples cordons, comme les noyaux des spirogyres. Les réactifs ont donc beau jeu pour y introduire toutes sortes de déformations. Nous ne connaissons pas encore un bon fixateur des œufs d'*Ascaris* à cette période, et Dieu sait si nous en avons essayés! Néanmoins, malgré ces circonstances très défavorables, nous trouvons toujours çà et là des asters bien nets, à côté d'autres

(1) J. B. CARROY : *Normalité des figures cinétiques*; La Cellule, t. III, p. 274.

qui sont plus ou moins dégradés ou indistincts, mais dont l'existence n'est pas douteuse.

Cette question de la présence des asters normaux dans les figures polaires des *Ascaris* et des autres nématodes est, pour nous, une question vidée; nous n'y reviendrons plus désormais.

SOBOTTA ne pouvant nier l'existence de radiations astériennes chez beaucoup de vertébrés et surtout d'invertébrés, soutient, nous l'avons vu, qu'elles ne constituent pas de véritables asters; en effet, dit-il, ces radiations naissent latéralement, au sommet tronqué du fuseau, et n'aboutissent pas à un centre commun, comme dans les asters ordinaires. C'est là une distinction par trop scolastique, et qu'on ne saurait d'ailleurs maintenir. Les asters polaires dont les rayons aboutissent à un centre, voire même à un centrosome, ne manquent pas. KOSTANECKI vient d'en figurer encore de très caractéristiques chez les *Physa*, au sommet d'un fuseau, dont tous les filaments convergent vers un point central. Nous aurons bientôt l'occasion de décrire chez les vertébrés des figures polaires aussi démonstratives à tous égards; leurs nombreux filaments fusoriaux aboutissent également à un centre commun et ponctiforme, qui sert en même temps de centre à un aster typique.

Il résulte de ce qui précède, qu'il n'existe, de ce double chef, aucune différence fondamentale entre les cinèses polaires et les cinèses ordinaires. Contrairement à ce que prétend SOBOTTA, on trouve dans les unes comme dans les autres des corpuscules et des asters véritables, ainsi que des fuseaux à filaments convergents.

La présence de corpuscules dans les figures polaires de l'*Ascaris* achève la démonstration tentée autrefois (1) par l'un de nous pour combattre l'opinion de VAN BENEDEN, qui considérait aussi les divisions polaires de cet animal comme des pseudo-cinèses.

(1) J. B. CARNOY : *La rés-germ. etc. chez l'Ascaris megalocephala*; La Cellule, t. 11, 1. 1886.

CHAPITRE III.

Le spermatozoïde, le corpuscule spermatique, l'archoplasme et les sphères attractives.

§ 1.

*Le spermatozoïde.*1^o *Structure.*

Le spermatozoïde de l'*Ascaris megalocephala* a été étudié au point de vue cytologique, pour la première fois, par l'un de nous; le *Prospectus de la Biologie cellulaire*, qui a paru au commencement de 1883, en fait foi : p. 9 et 10.

A la page 10, on y a représenté, FIG. 215, 2, un spermatozoïde pénétrant dans l'œuf; on y voit un réticulum très net dans la couronne ou partie antérieure, et à la périphérie du cône, ou partie postérieure. La portion centrale de ce dernier est occupée par une masse hyaline et réfringente; celle-ci est due à un dépôt d'enchylème myosique qui s'est fait dans les mailles du réseau du cône : c'est ce dépôt qui lui donne un aspect brillant et homogène. Lorsque le spermatozoïde a pénétré dans l'œuf, cet enchylème se dissout peu à peu de l'extérieur à l'intérieur, et le réseau apparaît. Les digestions artificielles mettent d'ailleurs ce dernier en toute évidence, FIG. 202, d, p. 9 du même *Prospectus*.

Dans son premier travail sur le même animal, paru au mois d'avril de l'année suivante(1), VAN BENEDEN s'occupe longuement du spermatozoïde, mais surtout au point de vue morphologique. Il admet, comme le *Prospectus*, la structure réticulée de ce corps. A ce propos, nous ne pouvons nous empêcher de faire remarquer que toutes les figures de VAN BENEDEN pèchent en un détail essentiel. Les gros points nodaux de son réticulum n'appartiennent pas à ce dernier; ce sont les sphérules d'enchylème, situées au milieu des mailles. Les trabécules n'y aboutissent donc pas; elles passent à côté dans les espaces laissés en blanc sur ses figures; le vrai réticulum n'y est pas représenté.

En 1888, BOVERI(2) s'est également occupé du spermatozoïde. Ses figures n'indiquent aucune trace de réseau. Il y représente seulement des

(1) E. VAN BENEDEN : *Rech. sur la mat. de l'œuf et la fécond.*; Arch. de Biol., 1883.

(2) BOVERI : *Die Befr. und Teil. d. Eies v. Asc. megaloc.*; Zellenstudien; Iena, 1888.

granules, ou plutôt des sphérules alignées avec ordre, radialement et concentriquement dans la couronne. Or, ces sphérules ne sont non plus que l'enchylème des mailles. L'auteur n'a pas aperçu les trabécules réticulaires : sans doute parce qu'elles ont été altérées ou rendues indistinctes par les fixateurs infidèles dont il s'est servi.

Les auteurs qui ont suivi n'ont rien dit de saillant sur la structure du spermatozoïde. Notons seulement que v. ERLANGER⁽¹⁾ y mentionne une structure alvéolaire, laquelle correspond à notre réseau et à ses mailles. Nous ne pouvons admettre cette manière de voir. Il suffit de toucher la vis micrométrique pour constater l'absence de membrane alvéolaire ; les trabécules disparaissent subitement pour faire place à d'autres. Cette question ayant été traitée dans un travail récent⁽²⁾, nous ne nous y arrêterons pas davantage.

Nos observations nouvelles fournissent peu de chose à ajouter à ce qui a été dit dans le „*Prospectus*“ sur la structure du spermatozoïde. Il est formé dans toute son épaisseur d'un réseau plastinien, dont les points nodaux sont peu marqués. On peut s'en assurer en le soumettant à la digestion, qui enlève la majeure partie de l'enchylème et dégage le réseau, fig. 202, *d*, du *Prospectus*. Au lieu de recourir à la digestion artificielle, on peut se contenter de fouiller la région de l'ovaire où la fécondation a eu lieu. Il n'est pas rare d'y rencontrer un nombre, parfois très grand, de spermatozoïdes digérés, réduits exclusivement à leur réseau plastinien, qui est d'une netteté et d'une régularité remarquables.

Dans les mailles de la spermatide, en même temps que celle-ci prend sa forme définitive, se dépose peu à peu un enchylème très riche et très dense, surtout à partir de la couronne, ou partie antérieure évasée. Dans celle-ci, le dépôt se fait également, mais il est beaucoup plus faible et n'empêche pas de voir les trabécules sur des objets bien fixés. Dans toute la partie inférieure, au contraire, le dépôt est tellement dense qu'il devient tout à fait réfringent, et, comme toutes les mailles en sont gorgées, les trabécules y sont noyées et indécélables sans avoir recours à la digestion.

Quant à la nature de cet enchylème, nous avons dit qu'il était myosique. Aujourd'hui, nous devons ajouter qu'à côté de l'albumine il renferme

⁽¹⁾ V. ERLANGER : *Beitrage z. Kenntn. d. Structur d. Protoopl.*; Arch. f. mikr. Anat., B. 49, p. 309, 1897.

⁽²⁾ J. B. CARNOY et H. LEBRUN : *La rés. germin., etc. chez les batraciens.* p. 294.

un composé nucléinien, très probablement une nucléo-albumine, qui est peut-être d'une *nature spéciale*. C'est à la présence de ce composé que le corps du spermatozoïde doit de se colorer si fortement en noir par l'hémathoxyline au fer, aussi fortement que les corpuscules polaires, et en bleu-violet par le vert de méthyle.

L'enchylème des mailles de la couronne se colore aussi, mais moins vivement; parfois, seulement en jaune brun par le premier de ces réactifs.

2° *Le spermatozoïde dans l'œuf.*

D'après VAN BENEDEN, le corps tout entier du spermatozoïde, après son entrée dans l'œuf, se ratatine et se résorbe ou est expulsé, sans plus servir.

L'un de nous a combattu aussitôt cette opinion; voici ce qu'il écrivait en 1886 (1).

- La fécondation fait de l'œuf une production nouvelle, une entité organique nouvelle. Dans cet acte suprême, la cellule mâle et la cellule femelle se fusionnent intimement, protoplasme à protoplasme, noyau à noyau, en perdant leur individualité propre pour constituer une individualité nouvelle, l'œuf fécondé ou la cellule de segmentation (2) -. En effet, les éléments de la cellule ovulaire sont complètement remaniés, pendant cette fusion, non seulement son noyau, mais son protoplasme. La plupart des observateurs admettent aujourd'hui la fusion des noyaux — que cette fusion se fasse avant, ou pendant la cinèse (E. VAN BENEDEN), qu'elle se fasse de telle ou telle façon, il importe fort peu. — Quant à la fusion du protoplasme, elle s'observe avec la plus grande facilité dans la conjugaison des végétaux; elle s'observe également chez l'*Ascaris megalocephala*. En traitant les œufs de cet animal par le vert de méthyle (3), le brun Bismarck, etc., on peut constater l'union intime qui s'établit entre le réticulum puissant de la cellule mâle (4) et celui de l'œuf, après que l'enchylème, répandu dans ses mailles, s'est dissous dans l'enchylème

(1) J. B. CARNOY : *La vésicule germinative et les globules polaires chez l'Asc. megaloccephala*; La Cellule, t. II, p. 69.

(2) *Biologie*, p. 187.

(3) Le vert de méthyle colore généralement le corps du spermatozoïde en bleu, ou en bleu violacé; cette coloration le fait distinguer aisément dans l'œuf.

(4) Nous avons indiqué le réticulum plastinien du spermatozoïde avant et après sa pénétration dans l'œuf, à la p. 9, fig. 202, d, et à la p. 10, fig. 215, 2, du *Prospectus de la Biologie*, et nous considérions déjà alors le corps brillant comme étant dû à un dépôt enchylémateux s'accumulant dans les mailles de ce réticulum.

- ovulaire. La cellule mâle de l'*Ascaris*, qui est très volumineuse et très
- dense, déverse donc une quantité considérable de principes nouveaux
- dans le protoplasme de la cellule femelle; elle contribue en outre à lui
- donner une nouvelle structure : elle lui imprime, pour ainsi dire, son
- cachet -.

Dans son second travail (1), E. VAN BENEDEN combat cette opinion, sans la citer. - Au moment où il prend naissance, dit-il, le pronucleus mâle est enveloppé par le résidu dégénéré du corps protoplasmique du zoosperme; celui-ci ne se confond pas avec le protoplasme ovulaire; il constitue autour du noyau du spermatozoïde une couche parfaitement délimitée -, et il y reste bien longtemps sous la forme d'une calotte. Celle-ci, après s'être détachée - se ramasse sur elle-même; elle diminue rapidement de volume... enfin toute trace du corps dégénéré du zoosperme disparaît complètement - par une sorte de digestion.

D'après l'auteur, ces faits sont faciles à observer sur des préparations fixées par l'acide acétique et traitées par la glycérine additionnée de vert de malachite et de vésuvine : le corps dégénéré du zoosperme, ou la calotte, se colore vivement en brun et tranche nettement sur le vitellus à peu près incolore.

BOVERI se range à l'opinion de VAN BENEDEN; le corps spermatique est résorbé. Seulement il suppose qu'il fournit un centrosome à l'archoplasme.

KULTSCHITZKY (2) a vu la partie antérieure du spermatozoïde émettre, dans le cytoplasme ovulaire, des bras divergents qu'il qualifie de pseudopodes, sa figure 18; mais il affirme que ces bras se brisent et se morcellent, puis se répandent en se dissolvant dans l'œuf.

V. ERLANGER (3) est aussi d'avis que le protoplasme spermatique ne joue aucun rôle dans la fécondation. La partie postérieure avec la masse réfringente se dissout d'abord pendant qu'il se dirige vers le centre de l'œuf. Arrivée là, la tête se désagrège en granules fournis par les points nodaux des alvéoles. Cet amas de granulations entoure le noyau spermatique et correspond à l'archoplasme de BOVERI; il l'appelle zone de

(1) E. VAN BENEDEN et NEYT : *Nouvelles recherches, etc.*; Bull. de l'Acad. royale des Sc. de Belgique, 1887, n° 8, p. 222.

(2) KULTSCHITZKY : *Die Befruchtungsvorgänge bei Ascaris megalocephala*; Arch. f. mikr. Anat., B. 31, p. 567.

(3) V. ERLANGER : *Recherches sur l'origine, etc. du corpuscule central*; C. r. de la Soc. biol., Paris, 10 avril 1897.

détritus. Enfin, la partie médiane se résorbe. Pour le surplus, il admet comme BOVERI que le corps spermatique fournit à l'œuf le corpuscule de segmentation.

Cependant, KOSTANECKI et SIEDLECKI (1) ont rompu récemment avec ces idées. Ils admettent, conformément à notre opinion, rappelée dans la citation précédente, que le spermatozoïde livre du protoplasme à l'œuf et détermine une irradiation dans le réseau cytoplasmique de celui-ci. Ils rapprochent avec raison ce phénomène de celui qui se rencontre chez d'autres animaux, la *Physa fontinalis*, par exemple. Dans les œufs de ce mollusque on aperçoit un rayonnement puissant, qui débute dans le *Mittelstück* et qui envahit ensuite progressivement tout le cytoplasme.

Aux yeux de ces savants, cette modification du réseau de l'œuf a pour but de faciliter le rapprochement des noyaux sexuels et, en même temps, d'amener près d'eux l'aire *protoplasmatique* rayonnante, formée sous l'influence de la portion intermédiaire du spermatozoïde.

Une fois arrivée à destination, cette aire diminue peu à peu d'étendue et cesse d'être distincte. Chez la *Physa*, on ne peut plus guère en saisir de trace à l'aide des meilleurs instruments sur les préparations les mieux réussies.

Pendant que s'opère cette atténuation, ou plutôt cette disparition de l'aire, les noyaux sexuels parcourent toutes les étapes de la maturation. Lorsque celle-ci est atteinte, ou à peu près, l'aire réapparaît clairement près des noyaux.

En même temps, l'hématoxyline au fer y fait déceler un centrosome d'une grande petitesse; celui-ci provient du corps spermatique; les auteurs sont, sur ce dernier point, du même avis que BOVERI et ERLANGER.

Ce corpuscule se divise, et bientôt l'aire protoplasmatique elle-même, pour fournir les deux sphères de segmentation.

Exposons maintenant nos observations.

A. *Modification du spermatozoïde. Plage de fusion.*

Rien n'est plus aisé que de constater l'influence remarquable que le spermatozoïde exerce sur le cytoplasme de l'œuf, à la condition, cependant, d'user de préparations irréprochables.

Malheureusement, VAN BENEDEN et la plupart des observateurs n'y ont pris garde. Ils se sont généralement servis de liqueurs acétiques ou

(1) KOSTANECKI et SIEDLECKI : *Ueber die Verhältniss d. Centrosomen* 7. *Protopl.*; Arch. f. mikr. Anat., B. 48, 1899.

nitriques, qui sont détestables pour l'étude des détails cytologiques; elles gonflent, détruisent, dérangent ou confondent les éléments du cytoplasme, et y introduisent en outre des vacuoles qui achèvent le désarroi. Le réseau particulièrement en pâtit. Surtout si la glycérine vient brocher sur le tout, elle qui, seule, rend déjà les trabécules indistinctes! Mieux vaudrait encore se servir de la liqueur de PERENYI qui n'est cependant pas recommandable. Mais le pire, c'est d'employer l'acide acétique glacial pur pour étudier la fusion du spermatozoïde avec l'œuf. Cela est vraiment étrange de la part de VAN BENEDEN, qui écrit quelques pages plus loin, dans le même travail : - Les œufs tués brusquement par l'acide acétique pur conservent fort incomplètement les détails de structure du - protoplasme..... L'acide paraît gonfler les microsomes et résoudre les - fibrilles en granulations qui, n'étant plus reliées entre elles, ne permettent - plus de reconnaître les fibrilles dont elles proviennent -. Était-ce bien là le réactif qu'il convenait d'employer pour l'étude des rapports intimes du spermatozoïde avec l'œuf

Si l'on veut se servir de l'acide acétique, il faut qu'il soit pris en petite quantité, et que son action dissolvante soit contre-balancée par un ou plusieurs fixateurs énergiques en quantité prédominante, particulièrement par le chloroforme et le sublimé. C'est de cette manière que nous avons procédé, ainsi qu'il a été mentionné dans l'introduction de ce travail.

Nous avons dit que les digestions artificielles dissolvent l'enchylème du spermatozoïde et mettent en évidence le réseau dans les mailles duquel il est renfermé. Il se passe quelque chose de semblable sur le spermatozoïde, après son entrée dans l'œuf; mais cette digestion naturelle se complique de phénomènes très intéressants, que nous allons décrire sur des préparations traitées par l'hématoxyline au fer.

La partie antérieure, déjà distendue, et la portion périphérique du cône perdent très tôt la majeure partie de leur enchylème. Celui-ci se ramollit et se dissout peu à peu, FIG. 1 et 2. C'est pour cette raison que le spermatozoïde prend alors plus fortement les colorants; ceux-ci pénètrent plus facilement l'enchylème et se fixent de prédilection — ici comme partout ailleurs — sur les nucléo-albumines qu'il renferme. VAN BENEDEN fait erreur en attribuant cette facilité de coloration à la présence de la nucléine, qui serait expulsée du noyau spermatique et rejetée dans le protoplasme. Car, il est aisé de voir que ce sont les sphérules de l'enchylème qui se teignent : sphérules qui étaient déjà renfermées dans les mailles du réseau du spermatozoïde avant son entrée dans l'œuf, comme on peut s'en assurer

par le vert de méthyle qui les colore en bleu violet, et l'hématoxyline au fer qui les colore en noir. D'ailleurs, la nucléine ne diminue pas dans le noyau; elle augmente au contraire graduellement jusqu'à sa maturité. Si VAN BENEDEN a constaté que le noyau, à l'époque dont nous parlons, se teignait moins fortement, cela résulte uniquement de ce que l'acide acétique glacial, qu'il emploie pur, lui enlève, comme tous les acides forts, une portion de sa nucléine.

Dans les FIG. 1 et 2 tout l'enchylème a disparu; les mailles du réseau commencent à se détendre. Dans la FIG. 3, ce dernier phénomène se marque davantage; le réseau s'épanouit dans le cytoplasme ovulaire. En même temps, le corps réfringent central, dont l'enchylème se digère peu à peu en libérant les trabécules, diminue de volume. Les corpuscules noirs, irréguliers, qu'on aperçoit collés contre le réseau de cette figure, proviennent du corps central; ce sont des masses enchylémateuses qui se détachent et se répandent au dehors, au lieu de se dissoudre sur place; ce phénomène est fréquent.

Dans ces trois figures, le spermatozoïde est vu de côté. Dans les figures suivantes, il est vu d'en haut; la couronne se présente alors de face et le noyau se projette sur le corps réfringent encore intact. On voit sur la FIG. 4, à la partie inférieure, comment ce corps développe son réseau en rejetant l'enchylème, qui se répand partout le long des trabécules en s'y accolant.

La FIG. 5 représente un autre type, assez commun aussi. Il est caractérisé en ce que le réseau de la couronne est vierge de granules colorables par les réactifs; c'est que l'enchylème du corps central se dissout lentement sur place, au lieu d'être expulsé d'abord des mailles.

La FIG. 6 est plus âgée; le réseau s'est étendu davantage et irrégulièrement en formant des bras, et le corps central est presque entièrement dégagé de son enchylème; il n'en reste plus qu'à la périphérie, où il est en voie de se répandre sur la partie extérieure du réseau. On remarquera que le réticulum de ce corps est entièrement respecté et qu'il fait corps commun avec le réseau qui l'entoure.

Nous arrivons à la FIG. 7, à laquelle il faut rattacher la FIG. 11. Ces figures sont fréquentes au stade auquel nous sommes arrivés. On y voit deux plages d'aspect différent: une plage centrale étoilée, plus sombre, et une plage extérieure plus claire. Celle-ci a des dimensions très variables. Tantôt elle forme un mince liséré, tantôt une bande plus large qui grandit progressivement jusqu'à atteindre les dimensions de la figure. A un fort grossissement: $1,30 \times 6$, on peut constater sûrement que les deux plages

sont en continuation, c'est-à-dire en liaison trabéculaire et qu'elles passent insensiblement l'une dans l'autre. Sur les bras de la plage centrale, on aperçoit des sphérules fortement teintées en noir. Elles proviennent, sans aucun doute, de la coalescence des petites masses enchylémateuses qui sont expulsées des mailles et qui s'unissent lorsqu'elles se rencontrent. Nous avons déjà appelé l'attention sur la tendance qu'ont tous les corps nucléiniens à se fusionner⁽¹⁾. Or, ce sont ces sphérules que KULTSCHITZKY a considérées à tort comme des fragments détachés des bras ou pseudopodes du spermatozoïde; pour s'en convaincre, il suffit de comparer sa FIG. 8 avec notre FIG. 7. Les bras réticulés, loin de disparaître, se fusionnent avec le cytoplasme.

Nous avons dit plus haut que la plage étoilée centrale des FIG. 7 et 11 était en liaison trabéculaire avec la zone extérieure; on pourrait être porté à en conclure que celle-ci n'est qu'un simple épanouissement de la première. Nous croyons cependant qu'il n'en est pas tout à fait ainsi.

Nous considérons la plage centrale comme étant due au réticulum spermatique fusionné ou mélangé intimement avec le cytoplasme ovulaire, et la zone extérieure comme étant une modification du cytoplasme seul. Cette modification trabéculaire serait déterminée par l'action des substances nucléo-albumineuses qui s'échappent du corps spermatique; nous reviendrons un peu plus loin sur ce sujet.

Quoi qu'il en soit, la distinction entre les deux plages dont nous parlons s'efface sans tarder. En effet, les granules enchylémateux nombreux, qui rendent la zone centrale plus sombre, se répandent bientôt uniformément partout; il n'y a plus alors qu'une plage homogène, comme dans les FIG. 8, 9, 12 et 13.

A propos de la FIG. 6, nous avons dit que le corps réfringent perdait de bonne heure tout son enchylème, et persistait sous la forme d'un réseau faisant corps avec la couronne. Ailleurs, sa dissolution est beaucoup moins rapide; telle est même la règle générale. Aussi ne pouvons-nous admettre avec ERLANGER que la partie postérieure avec son corps réfringent se dissout pendant la marche du spermatozoïde vers le centre de l'œuf; cela n'a presque jamais lieu. C'est, au contraire, le corps réfringent qui persiste le plus longtemps dans l'œuf, parfois jusques après la segmentation. Dans nos FIG. 4 et 5, il existe encore tout entier au centre de l'œuf; dans la FIG. 9, représentant un œuf plus âgé, la plus grosse part persiste encore. L'erreur de v. ERLAN-

(1) J. B. CARNOY et LEBRUN : *La vésic. germ. etc. des batraciens*; p. 282.

GER provient de ce qu'il distingue du corps réfringent ce qu'il appelle la calotte, ou partie médiane. Or, cette calotte qui, d'après lui, persiste en dernier lieu n'est que la portion supérieure du corps réfringent lui-même. Il arrive, en effet, que ce soit cette portion qui se maintienne, et alors le noyau est comme entouré d'une calotte. Mais il arrive non moins souvent que c'est la partie inférieure, FIG. 9 et 11, ou même la partie centrale du corps réfringent qui persiste le plus longtemps.

La manière dont ce corps s'efface au centre de l'œuf est variable. Ici, l'enchylème se dissout lentement sur place en respectant le réseau, FIG. 9, 11, 12. Ailleurs, il est comme expulsé et rejeté en un seul bloc sur le côté. Ailleurs encore, il se scinde en sphérules ou en fragments irréguliers qui se répandent au loin, et dont les plus gros restent souvent près du noyau, FIG. 8. Or, ce sont les masses régulières ou irrégulières de ces diverses catégories qui constituent les *corps résiduels*, qu'on retrouvera dans les étapes subséquentes et, parfois, jusqu'à la seconde et la troisième segmentation. Ces corps perdent peu à peu leur enchylème colorable et laissent un résidu plastinien brillant, provenant de leur réseau primitif; c'est ce résidu que l'on voit parfois près des noyaux de conjugaison ou de segmentation, sous la forme d'une sphérule brillante, qui disparaît bientôt pour toujours.

Il résulte clairement de cet exposé que les corps résiduels ne représentent pas le corps du spermatozoïde tout entier, ainsi que le prétendent VAN BENEDEN et BOVERI⁽¹⁾, mais *une portion seulement de la masse centrale ou corps réfringent*. Les parties coronaires et périphériques se sont maintenues en s'étalant dans le cytoplasme ovulaire et en se fusionnant apparemment avec lui. La masse centrale tout entière peut même prendre part à cette fusion, FIG. 6, 7, 12, et alors il n'y a pas de corps résiduel. Il n'y en a pas davantage lorsque cette masse se scinde en fragments ou sphérules peu volumineuses, qui s'éparpillent et se dissolvent aisément. Aussi, les œufs sans corps résiduels à l'époque de la segmentation sont-ils nombreux. Mais leur nombre varie beaucoup d'un individu à l'autre; ici presque tous les œufs en possèdent; là, la plus grande partie en est dépourvue.

(1) Les fig. 6, 7, etc. de BOVERI, ne représentent nullement le corps tout entier du spermatozoïde, mais uniquement la masse centrale, comme dans nos FIG. 4 et 5. Seulement cette masse est gonflée et déformée par son réactif qui est détestable pour l'étude du spermatozoïde. Les granules qui entourent les corps résiduels sur ces figures représentent notre plage de fusion; c'est son réactif également qui l'a empêché de voir le réseau très fourni qui s'y trouve, car il ne respecte que les granules nucléo-albumineux de l'enchylème.

Ces variations dépendent uniquement de la manière dont se sont effectuées les modifications que subit le corps réfringent au centre de l'œuf et, avant tout, de la rapidité avec laquelle l'enchylème s'est dissous.

Revenons maintenant à la plage centrale, que l'on pourrait appeler *plage de fusion* ou de *pullulation*. Les FIG. 6 à 13 indiquent bien comment cette plage se propage et s'étend dans tout l'œuf, en modifiant fondamentalement sa structure. Nous n'avons pas besoin de faire remarquer que, par ce mot *plage* nous ne voulons pas indiquer un plan. Car elle est une sphère, comme la portion antérieure du spermatozoïde, qui a été son point de départ en se débandant de tous côtés et en répandant son enchylème dans toutes les directions. Nos figures la représentent en coupe optique.

A un stade un peu plus avancé que celui de la FIG. 12, le cytoplasme primitif est totalement envahi; la plage n'est plus visible alors, car la plage c'est l'œuf tout entier.

Mais combien différente est la structure de l'œuf! Au stade des globules polaires, le cytoplasme était rempli de vacuoles, souvent volumineuses, séparées par de minces cordons, FIG. 7 à 12; son réseau était pauvre. Maintenant, il est pauvre en vacuoles et très riche en réseau. Le réticulum ovulaire primitif, sous l'influence du spermatozoïde, est entré en pullulation très active; il a multiplié considérablement ses trabécules pour donner naissance à un nombre immense de mailles d'une grande petitesse. La même activité a régné dans les cordons; ils se sont étendus en multipliant aussi leurs trabécules, et ont presque fait disparaître les vacuoles par leur envahissement, FIG. 12. En un mot, le cytoplasme a subi une transformation complète, aussi complète qu'on pourrait la rêver.

Le travail de refonte n'est cependant pas achevé. A cette période de *pullulation* succède une période d'*élaboration* finale.

Il s'opère, en effet, bientôt un travail intime dans le réseau de pullulation, qui amène la formation de mailles plus grandes et moins nombreuses, et de trabécules plus épaisses. Cette dernière élaboration suit une marche inverse de la première : elle débute à la périphérie et s'achève vers le centre, près des noyaux sexuels ou un peu à côté, FIG. 14 et 15. Dans cette dernière figure, il ne reste plus qu'une minime portion du réseau de pullulation, à mailles très petites; le restant s'est transformé en réticulum définitif. Cette transformation est complète dans la FIG. 16. Cette figure, ainsi que les suivantes, FIG. 17 à 27, peuvent donner une idée du cytoplasme fécondé ou cytoplasme de segmentation, à l'état de repos.

Le moment où la disparition des derniers restes de la plage de fusion s'effectue, n'est pas le même partout. Tantôt c'est au stade de la FIG. 14 et 15, tantôt à celui de la FIG. 16; le plus souvent c'est à l'étape intermédiaire entre la FIG. 15 et 16.

Nous avons vu que la plage empruntait sa teinte sombre à un grand nombre de granules enchylémateux, très résistants aux réactifs. En effet, les composés nucléiniens du corps spermatique n'agissent pas seulement sur le réticulum, ils exercent aussi une influence marquée sur le contenu des mailles. De hyalin qu'il était, celui-ci devient très granuleux. Ces nouveaux granules résultent de l'action chimique des nucléo-albumines du spermatozoïde sur les albumines de l'œuf; car ils n'apparaissent que lorsque les sphérules enchylémateuses de la tête se sont dissoutes. Ils sont visiblement situés dans les mailles du réseau qui pullule. C'est donc doublement à tort que V. ERLANGER les fait dériver des points nodaux du réseau désagrégé de la tête du spermatozoïde, pour former sa zone de détritüs.

Ils sont eux-mêmes de nature nucléo-albumineuse; ils répondent sensiblement, comme tous les corps de cette catégorie à l'action des colorants: le vert de malachite, le Wasserblau, etc. L'hématoxyline au fer leur imprime une teinte légère. C'est pour cette raison, uniquement, que la plage de fusion se colore plus fortement que le reste de l'œuf, surtout au début. Alors, en effet, les nombreux granules qui s'élaborent incessamment sont accumulés sur une zone limitée; pour peu qu'ils soient teintés, celle-ci ressort vivement.

Cela explique pourquoi l'archoplasme et les soi-disant sphères attractives sont mis en évidence par les réactifs de VAN BENEDEN et BOVERI. En effet, l'acide acétique glacial, seul ou mélangé avec son volume d'alcool, l'acide picro-acétique, rendent le cytoplasme de l'œuf homogène et plus ou moins transparent, et respectent les granules. L'archoplasme de BOVERI n'est autre chose, en effet, que l'ensemble des granules enchylémateux de nos plages de fusion, sans plus. Également, ce qui fait ressortir les sphères attractives, c'est-à-dire les asters, c'est la présence de granules semblables dans l'enchylème qui est interposé aux rayons.

A mesure que la plage grandit, ces granules se répandent dans tout l'œuf en même temps que le réseau. Plus tard, pendant l'élaboration définitive de ce dernier, ils deviennent de moins en moins nombreux: soit qu'ils se dissolvent dans l'enchylème, soit qu'ils servent à nourrir le réseau. A partir du stade de la FIG. 16, l'enchylème est hyalin et pauvre en granules; c'est toujours au centre qu'il reste le plus longtemps granuleux.

A. *Fusion.*

Nous avons prononcé plusieurs fois, dans cet exposé, le mot *fusion*. Y a-t-il réellement fusion entre le réseau du spermatozoïde et celui de l'œuf; en d'autres termes, les trabécules du premier persistent-elles comme éléments figurés du cytoplasme modifié?

Cette question n'est pas facile à résoudre. Deux faits nous paraissent certains, d'après nos observations.

1^o Lorsque le réseau du spermatozoïde se répand dans l'œuf, des trabécules se mettent sûrement en rapport de continuité avec les trabécules de ce dernier, nous avons constaté trop de fois cette continuité sur des coupes minces pour en douter encore. 2^o La plage due au spermatozoïde ne se transforme certainement pas en corps résiduel figuré, soit en se rétractant en masse, soit en tombant en lambeaux, ou autrement. Elle reste toujours comme partie intégrante de la zone qui envahit l'œuf peu à peu. Nous avons déjà montré que KULTSCHITZKY et ERLANGER s'étaient mépris en admettant la dislocation et la résolution soit de la tête, soit des bras spermatiques. C'est pourquoi, si le réseau du spermatozoïde engagé dans l'œuf disparaît, ce ne peut être que par une *dissolution moléculaire* lente et insensible. Or, une pareille résolution se dérobe à l'observation, et, portée sur ce terrain, la question est insoluble.

Nous nous en tiendrons pour le moment à la conclusion qui se dégage tout naturellement des deux faits que nous venons de signaler : selon toute apparence, il y a fusion organique d'une portion notable du protoplasme spermatique avec le cytoplasme ovulaire.

Du reste, est-il nécessaire de recourir à cette fusion, pour admettre que le corps du spermatozoïde modifie et change la structure organique du cytoplasme ovulaire? Non, assurément. Pour cela faire, il suffit qu'il introduise dans l'œuf des substances chimiques, capables d'agir sur son réseau plastinien, et de s'y incorporer comme éléments constitutifs nouveaux. Or, tel est bien le cas pour les substances nucléo-albuminifères, qui sont si abondantes dans le corps spermatique.

Ces substances ont, en effet, une influence marquée sur le réseau. Témoins les figures en goupillon et autres de toute forme, qui se produisent dans l'œuf des batraciens pendant la résolution des nucléoles, et qui modifient toute la structure du caryoplasme(1). Témoins encore les asters et les

1) J. B. CARNOY et LEBRUN : l. c., *passim*.

auréoles qui surgissent dans le cytoplasme au début de toute cinèse, sous l'influence des corpuscules, qui sont aussi de cette nature. Enfin, ces substances renferment une quantité notable d'un acide nucléinien, probablement l'acide paranucléinique, qui peut être incorporé soit comme tel, soit en combinaison par les trabécules du réseau. Celles-ci s'en nourrissent, s'en accroissent, et peuvent ainsi se multiplier et donner naissance à un réticulum très riche, qui tranche sur la partie lâche non encore modifiée. Une fois commencée, cette transformation progresse à mesure que l'enchyème du spermatozoïde se dissout et se répand au loin, et bientôt envahit l'œuf tout entier.

En résumé, qu'il y ait fusion ou non, la structure primitive du cytoplasme ovulaire est complètement remaniée et transformée sous l'influence du corps spermatique, et cela définitivement et sans retour. C'est là un fait patent d'observation. On est donc autorisé à affirmer qu'il est devenu un être nouveau, tenant à la fois de l'œuf et du spermatozoïde par sa constitution organique et chimique, c'est-à-dire un être de nature mixte.

Tel est le but et le terme final du travail physiologique qui s'exécute dans notre plage de fusion, ou dans l'aire protoplasmique de KOSTANECKI et SIEDLECKI. C'est assez dire que ce travail ne peut avoir pour but de fournir les sphères de segmentation, comme le prétendent ces savants (1). Nous verrons bientôt que ces sphères sont des productions nouvelles et indépendantes de l'aire plasmatique, et que le centrosome qu'elles renferment ne provient pas du spermatozoïde.

§ II.

Corpuscule spermatique.

A. Il n'existe pas.

L'œuf ainsi modifié ne renferme plus que les deux noyaux sexuels et le corps résiduel, quand il existe. A partir de l'étape de la fig. 16, et même souvent auparavant déjà, on n'y voit aucune trace d'archoplasme, ni de centrosome, ni de sphère d'aucune sorte, fig. 16 à 20. Les recherches les plus soignées et les plus minutieuses à l'aide de l'hématoxyline ferrique nous permettent d'être tout à fait affirmatifs à cet égard. Et il n'y aura pas trace de ces corps jusqu'au moment où les noyaux de conjugaison se mettront en mouvement pour la première segmentation.

Mais alors, nous dira-t-on, comment expliquer que BOVERI et les autres

(1) Voir plus haut, p. 85.

observateurs, attribuent tous, hormis HERLA (1), une origine spermatique au centrosome de segmentation?

D'abord BOVERI n'a pas vu le centrosome encore engagé dans le spermatozoïde; il ne l'a pas vu non plus en sortir. Il y a plus. Il n'en a rien découvert dans l'œuf, depuis l'entrée du spermatozoïde jusqu'à la segmentation! C'est seulement lorsque la forme pelotonnée commence à se dessiner dans les pronucléi (2) qu'il trouve une sphérule colorable dans son archoplasme. Et, s'il croit que cette sphérule provient du spermatozoïde, c'est uniquement *parce que* ce dernier, lui aussi, s'est trouvé auparavant dans l'archoplasme : - *Cum hoc; ergo propter hoc!* - Ce raisonnement n'est pas très convainquant. N'y a-t-il pas lieu plutôt de s'étonner que BOVERI se soit cru autorisé à faire d'une pareille observation la pierre angulaire de sa théorie sur la fécondation? Tant insuffisante qu'elle fût, cette observation eut d'ailleurs une influence néfaste sur les recherches subséquentes : les savants s'évertuèrent à trouver partout un centrosome spermatique. Tel KOSTANECKI et SIEDLECKI, tel v. ERLANGER.

A en juger par leur mémoire, les premiers de ces auteurs ne paraissent pas avoir fait des recherches spéciales, pour constater l'origine du petit centrosome qui apparaît près des noyaux sexuels arrivés à maturité (3); ils se contentent d'affirmer qu'il est fourni par le corps du spermatozoïde. Nous n'avons plus besoin de répéter que le corpuscule dont ils parlent a une tout autre origine.

Il n'en est pas de même de v. ERLANGER. Ce savant a fait de sérieuses recherches concernant la provenance du centrosome de segmentation. Il aboutit à la conclusion qu'il est d'abord renfermé dans le corps du spermatozoïde, sous le noyau. Il produit plusieurs photographies à l'appui de son assertion.

Nous ne pouvons nous empêcher de penser que v. ERLANGER a considéré comme centrosome l'une ou l'autre sphérule d'enchylème, dont nous avons parlé plus haut, à propos de la fusion du spermatozoïde avec l'œuf (4). Cette confusion se comprend aisément chez les observateurs imbus des idées de BOVERI, qui s'attendent à voir sortir le corpuscule du corps spermatique. Nous l'avons déjà dit, les sphérules de la plage de fusion ont absolu-

(1) HERLA : l. c., p. 170, combat l'opinion de BOVERI; pour lui le corpuscule est d'origine cytoplasmique, puisqu'il apparaît spontanément avec la sphère dans le cytoplasme ovulaire.

(2) BOVERI : l. c., à l'étape de sa fig. 21 et 32.

(3) Voir plus haut, p. 93.

(4) Voir ci-dessus, p. 87, 88.

ment les mêmes réactions que les centrosomes véritables, surtout vis-à-vis de l'hématoxyline au fer, et elles en ont souvent la forme et le volume.

Mais, d'un autre côté, on les trouve à des endroits divers. Tantôt dans le corps spermatique : soit au sommet, sous le noyau ; soit au milieu ; soit à la partie inférieure, fig. 9 et 11 ; tantôt dans l'aire de fusion, fig. 7, 8, 13. Leur nombre est variable : ici on en trouve une ou deux ; là, jusqu'à 10 et plus. Mais, *souvent aussi, elles manquent complètement* ; cela a lieu chaque fois que le corps réfringent se dissout rapidement sur place. Le volume de ces sphères varie dans le même œuf, et d'un œuf à l'autre. Enfin, on les trouve souvent au milieu d'un amas de fragments irréguliers, provenant de la désagrégation de la masse centrale toute entière. Tout est donc variable et capricieux dans les allures de ces corps. Rien, chez eux, ne rappelle un vrai centrosome : qui est unique, qui doit être constant, avoir sensiblement le même volume et se trouver à la même place dans le spermatozoïde.

En outre, un examen attentif montre que ces prétendus centrosomes se dissolvent intégralement. En effet, ils diminuent très vite de volume et, dans la grande majorité des œufs, *ils ont disparu assez longtemps avant la maturité* des noyaux sexuels. Ce n'est que par exception que l'on trouve, çà et là, une sphérule qui pourrait rappeler un centrosome, au stade de notre fig. 15. Depuis cette étape jusqu'à la segmentation, ils font défaut ; nous avons déjà insisté sur ce point important. A moins qu'on ne prenne pour un corpuscule un corps résiduel de minime volume, comme il s'en présente un au bas de notre fig. 14 ; on en rencontre de plus petits encore.

Si l'on joint à tous ces faits *l'impossibilité où l'on est de mettre un centrosome en évidence dans les jeunes spermatides* — et v. ERLANGER l'avoue, — on trouvera sans doute que les raisons sont suffisantes pour ne pas admettre l'identification de ces sphérules avec le vrai centrosome de division.

Il est aisé, à l'aide de ce qui a été écrit ci-dessus concernant la dissolution et la fragmentation du corps réfringent central, d'expliquer les photographies de v. ERLANGER et d'en donner la vraie signification.

Dans sa fig. 2, il représente un centrosome dans le corps spermatique, sous le noyau. Cette figure est à rapprocher de notre fig. 11, dans laquelle la sphérule supérieure marque le prétendu centrosome de v. ERLANGER. Nous savons que c'est une portion en voie de digestion du corps central.

Le centrosome est au milieu du corps dans sa fig. 3. Nous savons également que la portion non digérée du corps réfringent peut se trouver au centre, aussi bien qu'aux extrémités.

Les corpuscules de ses fig. 8 et 10 appartiennent aux sphérules de résolution qui sont indiquées sur nos fig. 13 et 15 ; à cette étape on trouve

fréquemment une ou plusieurs de ces sphérules, de dimension variable, dans la plage de fusion. Celui de sa fig. 13 est un corps du même genre, analogue à celui de notre fig. 15. Ou bien, peut-être, un corps résiduel, un peu moins volumineux que celui de notre fig. 14.

Quant aux centrosomes de ses fig. 15 et 19, le doute n'est pas possible : ce sont les nouveaux corpuscules sortis du noyau au début de la cinèse ; ils sont donc parfaitement étrangers au corps spermatique.

B. *Il ne se divise pas.*

Les auteurs ont aussi parlé de la division du centrosome spermatique avant la cinèse.

D'après v. ERLANGER (1), sa division ne s'effectue *le plus souvent* que quand il est venu se placer entre les pronucléi accolés ; cependant, ajoute-t-il, elle peut avoir lieu plus tôt, avant même qu'il ne sorte de la zone de détritüs.

Le centrosome qui, prétendument, se divise entre les pronucléi accolés, ne vient pas du spermatozoïde, nous venons de le dire. Quant à la division plus précoce, ce n'est qu'une apparence. On voit, çà et là, des sphérules de résolution très rapprochées, fig. 13, ou accolées, voire même à demi-fusionnées ; ce sont ces images qu'on prend pour les divers stades d'une division centrosomique.

A propos de ses fig. 26, 32 et 33, BOVERI parle aussi de division. Les centrosomes de sa fig. 33, pourraient dit-il, provenir du centrosome unique de sa fig. 32 ; mais il est loin d'être affirmatif : il est possible, ajoute-t-il, qu'il y en ait eu un second de caché dans cette dernière figure. D'ailleurs, cette division n'est pas *ad rem*, les corpuscules de ces figures n'étant pas d'origine spermatique : ils viennent de sortir du noyau.

Après l'étude que nous avons faite des transformations du spermatozoïde dans l'œuf, nous étions tellement convaincus que le centrosome de division ne pouvait en provenir, que nous nous étions arrêtés à cette conclusion : ou bien ce centrosome naît de toute pièce dans le cytoplasme, au moment même de la cinèse, ou bien il sort du noyau.

D'ailleurs, si, ce qui est plus que probable, les phénomènes se passent dans la dernière division des spermatocytes, comme dans les cinèses ordinaires, il ne peut y avoir de *spermocentre*, la spermatide ayant perdu son centrosome immédiatement après la cinèse. Nous avons vu que, *de fait*, la jeune spermatide en est dépourvue.

1) v. ERLANGER : *Recherches, etc. du corps central*, Comptes rendus de la Soc. Biol. Paris, 10 avril, 1897.

§ III.

*L'archoplasme et les sphères attractives.*1° *Archoplasme.*

Nous parlerons ici de l'archoplasme, une fois pour toutes; nous n'y reviendrons plus.

1° BOVERI donne le nom d'*archoplasme* à une masse granuleuse, limitée et compacte, provenant du cytoplasme de l'œuf, mais qui en est distincte par ses caractères. Les granules y sont nombreux; il les croit libres et indépendants, non reliés entre eux.

2° L'acide picro acétique le met en évidence. En effet, dit BOVERI, ce réactif gonfle tous les éléments cellulaires : filaments, granules, plaques vitellines, etc. et en fait une masse homogène et transparente, dans laquelle on distingue les noyaux et l'archoplasme, qui sont seuls respectés par le réactif.

3° Cette réaction commence à se manifester entre l'expulsion du premier et du second globule polaire; on voit alors l'archoplasme régulièrement granuleux entourer le spermatozoïde.

4° Il admet que c'est par attraction du spermatozoïde que l'archoplasme vient l'entourer.

5° Après l'expulsion du second globule, le spermatozoïde abandonne l'archoplasme. Celui-ci, tantôt reste au centre en masse limitée, comme auparavant; tantôt se répand dans tout l'œuf. Mais bientôt, dans ce dernier cas, il se rétracte et tend à reprendre sa forme première.

6° A un stade plus avancé, lorsque les noyaux montrent la forme pelotonnée, la contraction s'accroît davantage et l'archoplasme reprend sa forme compacte.

7° Alors on y voit un centrosome — dérivant du spermatozoïde — qui se divise bientôt. Sous l'influence de ces deux nouveaux centres, l'archoplasme se segmente en deux sphères : les sphères de division.

8° L'archoplasme est la seule partie active pendant la division; le restant du cytoplasme est passif, et simplement coupé en deux par l'étranglement final. Le noyau aussi est inactif : il ne se divise pas; il est divisé.

Après cette description, BOVERI ajoute, d'ailleurs, que l'étude de l'archoplasme et des divers aspects qu'il présente est difficile et pleine d'obscurité. Il ne manque pas d'œufs, dit-il, qu'on peut retourner et examiner de toute

façon, sans qu'on puisse en avoir une image claire, et il avoue que, dans tout ce qu'il a dit (du 1^o au 6^o), il s'est mu sur un terrain incertain.

Un mot de critique sur chacune de ces assertions.

1^o Le lecteur sait déjà ce qu'il faut penser de la masse granuleuse de BOVERI. Elle est formée de granules résultant de l'action de l'enchylème spermatique sur l'enchylème ovulaire; elle n'est donc pas seulement due à l'œuf. D'ailleurs, n'ayant pas de réseau, d'après l'auteur, elle ne saurait être une portion différenciée du cytoplasme. Certes, le réseau y existe, et il est très accentué. Si BOVERI ne l'a pas aperçu, c'est uniquement à cause de son réactif qui, il l'avoue lui-même, confond tous les éléments de la cellule. Mais ce réseau n'appartient pas précisément au protoplasme de l'œuf; c'est un réseau nouveau qui est l'œuvre du spermatozoïde.

2^o Pour mettre l'archoplasme en évidence dans son intégrité, loin qu'il faille recourir à l'acide picro-acétique, il faut au contraire éviter soigneusement son emploi, puisqu'il altère sa partie principale : le réseau.

3^o Quant à l'époque de son apparition, elle coïncide avec l'entrée du spermatozoïde, et non avec la formation des globules; car, aussitôt entré, son corps se transforme. On peut voir sur notre fig. 11, combien la plage de fusion s'est étendue déjà au stade équatorial de la première figure polaire.

4^o Inutile d'ajouter que l'archoplasme s'élabore sur place, à l'entour du spermatozoïde; il n'est donc pas attiré des profondeurs de l'œuf par ce dernier.

5^o Le spermatozoïde ne peut sortir de lui-même. Rien ne peut sortir de l'archoplasme après l'expulsion du second globule, parce qu'il occupe tout l'œuf. Ce qui est vrai, c'est que le *corps résiduel* peut être rejeté du centre sur les côtés.

6^o Au début de la forme pelotonnée, il y a bien longtemps que la plage a envahi le cytoplasme; jamais elle ne se maintient en masse limitée au centre de l'œuf. Elle ne se rétracte pas davantage; car sa transformation en réseau définitif est déjà achevée. BOVERI s'est mépris. Il a vu sur certains œufs un reste de la plage première à petites mailles, non encore transformée définitivement, comme dans notre fig. 15, et il l'a considéré comme résultant de la rétraction des territoires plus étendus de nos figures précédentes. De pareilles images sont très rares à cette période, et il n'est pas étonnant que, sur beaucoup d'œufs, BOVERI n'ait pu découvrir d'indices certains de son archoplasme.

7^o Cette rétraction n'ayant pas lieu, elle ne peut donner lieu aux

masses compactes dont parle l'auteur au stade peloton. L'archoplasme n'y est pour rien; ce sont les asters de segmentation qui débudent.

8° De ces observations, il résulte clairement que l'archoplasme, tel que le comprend BOVERI, ne peut jouer le rôle qu'il lui attribue. Ce n'est que de l'enchylème granuleux, qui n'est pas même organisé. Ensuite, il disparaît totalement comme tel. Car, au moment où le réseau définitif s'établit, les granules se fusionnent sur place et l'enchylème redevient hyalin. Pour cette double raison, archoplasme ne peut fournir les sphères de segmentation, ni jouer un rôle actif comme élément morphologique; encore moins devenir le *fac totum* de la division, à l'exclusion du cytoplasme et du noyau!

Voulût-on adjoindre à la masse granuleuse de BOVERI le réseau qui s'y trouve, et faire de l'archoplasme un synonyme de notre plage de fusion, ou de l'aire de KOSTANECKI, il ne pourrait encore prétendre à ce rôle. Car, de fait, nous l'avons déjà dit, et nous venons de le répéter encore, les prétendues sphères compactes qui en résulteraient, d'après BOVERI, ont une toute autre origine et sont étrangères à l'archoplasme.

BOVERI n'avait-il pas raison de dire qu'en écrivant ses longues pages sur l'archoplasme, il se sentait porté sur un sol mouvant et incertain?

2° *Sphères attractives.*

On peut définir la sphère attractive de VAN BENEDEN un archoplasme dont les granules seraient reliés dans les divers sens par de minces fibrilles, et dont les fibrilles radiales aboutissent au centrosome. En dernière analyse, c'est un système fibrillaire à points nodaux accentués, et ayant le corpuscule pour centre. Près du centrosome existe une zone circulaire plus claire, dans les limites de laquelle les radiations sont peu marquées et peu nombreuses. Elle est délimitée par un cercle de granulations assez volumineuses. De là, les deux zones *médullaire* et *corticale*, que l'auteur distingue dans la sphère.

Les deux sphères, d'après l'auteur, sont des portions différenciées du cytoplasme ovulaire, mais elles en sont limitées nettement et indépendantes. Elles existent sûrement pendant le stade peloton, et même avant, alors que les noyaux sont encore réticulés.

Quant à leur origine, il incline à croire, sans en être certain, qu'elles dérivent de la seconde figure polaire.

Elles se maintiennent avec leurs limites et leurs caractères à travers toutes les segmentations; ce sont des *éléments permanents* du cytoplasme.

Enfin, il les considère comme les organes actifs de la division, de même que BOVERI son archoplasme.

Nous avons donné il y a quelques semaines, dans un travail sur - *Larécicule germinative des batraciens* -, p. 207-211, notre appréciation sur la nature, la signification et la destinée éphémère des sphères attractives. Elles ne sont autre chose que les asters vulgaires de la première segmentation, c'est-à-dire des modifications transitoires du cytoplasme ordinaire en vue de la division. Elles ne constituent donc pas des éléments indépendants et permanents de la cellule; elles disparaissent à chaque division.

Quant au centrosome il ne provient nullement du cytoplasme, ainsi que nous allons le voir.

En parlant plus loin des asters et du fuseau, nous aurons l'occasion de revenir sur la manière erronée dont VAN BENEDEN conçoit la structure de ses sphères, et le rôle qu'il leur fait jouer à tort durant la cinèse.

Un mot seulement concernant leur origine.

Ce sont certaines images où les sphères paraissent exister au voisinage du pronucleus femelle, encore peu éloigné du second globule polaire, qui ont porté VAN BENEDEN à penser que les sphères pourraient bien dériver de la seconde figure. L'auteur fait sans doute allusion à sa fig. 1, Pl. 1. Il y représente, en effet, des manières de sphères avec corpuscule central, près d'un jeune noyau femelle. BOVERI affirme n'avoir rien vu de semblable. Nous avons dit dans le premier chapitre que, malgré nos recherches minutieuses, nous n'avions jamais vu de corpuscules près des noyaux jeunes ou qui commencent seulement à s'entourer d'une membrane. Aussi, croyons-nous avec BOVERI que la fig. 1 de VAN BENEDEN ne peut avoir d'importance. Il s'agit là d'un accident de préparation. A moins que, peut-être, par une exception rarissime, le corpuscule inférieur de la seconde cinèse polaire ne se soit maintenu très longtemps et fragmenté en deux morceaux. Dans tous les cas, cette figure n'a pu persister et donner naissance aux sphères attractives. Car jamais on ne trouve ces sphères dans le cytoplasme aux étapes suivantes, jusqu'au moment où les noyaux de conjugaison entrent en mouvement, c'est-à-dire jusqu'au stade des fig. 2 et 3, Pl. 1, de VAN BENEDEN, et des fig. 29, 32 et 33, Pl. 2, de BOVERI, dans lesquelles *le peleton commence à se dessiner*. Or, les sphères de ces figures sont de récente formation et ne peuvent avoir aucun lien génétique avec les autres corps trouvés dans l'œuf jusque là, quelle que soit leur ressemblance avec des sphères de division, ou avec des centrosomes.

CHAPITRE IV.

La segmentation (1).

Nous pouvons tirer des deux chapitres précédents les conclusions suivantes :

Il n'y a pas d'ovocentre.

Le spermocentre n'existe pas davantage.

Avant la segmentation, le protoplasme fécondé est dénué de tout corpuscule ou centrosome.

Il est également dépourvu de toute sphère : archoplasmique, attractive, plasmatique ou autre.

S'il en est ainsi, il y a lieu de se demander : comment peut s'effectuer la segmentation ?

Les corpuscules de segmentation sont fournis par les noyaux.

Les prétendues sphères sont l'œuvre exclusive des corpuscules qui viennent de s'échapper des noyaux sexuels, où il sont nés et restés enfermés jusque là.

Telle est la double proposition que nous devons maintenant démontrer.

Nous parlerons d'abord des corpuscules et de leur sortie, puis de leur rôle dans la segmentation, c'est-à-dire de la production des asters et du fuseau. Il nous restera ensuite à traiter du retour des bâtonnets vers les pôles et de la reconstitution des noyaux.

§ I.

Les corpuscules de segmentation.

Les corpuscules qui servent à la première division sont renfermés dans les noyaux sexuels : ce sont simplement leurs nucléoles plasmatiques. BOVERI, KULTSCHITZKY, KOSTANECKI et ERLANGER ont vu et figuré de ces corps, qu'ils appellent nucléoles achromatiques.

On peut constater sur nos figures qu'ils existent aussi bien dans le noyau femelle que dans le noyau mâle. Les auteurs précités avaient déjà constaté ce fait pour leurs nucléoles.

(1) La seconde segmentation étant dans tous ses traits essentiels identique à la première, nous traiterons des deux à la fois.

1° *Leurs propriétés.*

Ils ont peu d'affinité pour les colorants habituels de la nucléine : le vert de méthyle ne les colore pas; l'hématoxyline les teint faiblement. Ils sont moins revêches vis-à-vis des colorants particuliers du centrosome : fuchsine acide, safranine, orange, etc.; sous ce rapport, ils se conduisent comme le corpuscule central. C'est pourquoi, leur meilleur réactif est aussi l'hématoxyline ferrique. Sous son influence, ils se colorent en noir d'ébène, qui tranche vivement sur le caryoplasme hyalin où ils se trouvent disséminés. On les aperçoit clairement sous la forme d'une petite sphère, occupant une position quelconque dans les noyaux sexuels, sur toutes nos figures, PL. I et II.

Après notre mode de traitement, ils sont parfaitement homogènes et uniformément colorés. Ils sont toujours nus, c'est-à-dire dépourvus de zone périphérique hyaline, ou zone claire. Jamais on n'y voit de vacuoles. Jamais non plus ils ne représentent un amas de granules. Il n'est pas impossible qu'ils renferment un nodule central, sorte de nucléolule; nous avons trouvé à plusieurs reprises quelques indices de ce corps, mais rien de net; il est possible qu'on soit plus heureux en employant d'autres procédés.

Quant à leur nature chimique, nous devons nous borner à dire qu'ils renferment une nucléo-albumine, qui est peut-être d'un caractère spécial. Cette substance présente les plus grands analogies avec le composé du même groupe, qui remplit les mailles du corps ou de la portion intermédiaire - *Mittelstück* -, du spermatozoïde, et qui se colore avec la même intensité par l'hématoxyline au fer.

2° *Leur origine.*

Nous n'avons étudié l'origine des corpuscules dans les noyaux sexuels que chez la variété *bivalens*.

Les corpuscules apparaissent très tôt dans les noyaux, FIG. 13.

Le noyau femelle de cette figure vient de se reformer. On aperçoit, entre les deux bâtonnets, un pont qui les relie et qui porte trois ou quatre petites sphérules, premiers indices des corpuscules. Sur d'autres œufs, ces corpuscules sont situés aux bouts des bâtonnets, ou bien ils sont libres dans le caryoplasme. Nous croyons que le pont dont nous venons de parler est une production de l'un ou l'autre bâtonnet, et que souvent c'est une expansion de ce genre qui donne les corpuscules. Cette interprétation est corroborée par les phénomènes qui se passent dans la couronne polaire de segmentation chez l'*Ascaris univalens*, comme nous le verrons bientôt.

A l'intérieur du noyau mâle de la même figure, on aperçoit un corpuscule très net qui est encore relié par un très mince pédicelle à un bâtonnet; à côté, on en voit deux qui semblent accolés.

Si nous interprétons bien la FIG. 13, il faudrait admettre que les corpuscules dérivent de l'élément nucléinien, et que leur apparition coïncide avec le premier début du développement des noyaux sexuels. Nous verrons qu'il en est ainsi aux divisions suivantes.

A part toute interprétation, on doit admettre que les corpuscules naissent très tôt.

Les noyaux étant très petits, il est difficile d'en déterminer le nombre. On en compte 2, 3 et 4. Lorsque les noyaux sont un peu plus volumineux, FIG. 14 et 15, on en compte fréquemment 4. Nous croyons que ce nombre est le nombre typique.

BOVERI a figuré également des nucléoles dans des noyaux sexuels très jeunes. C'est à tort qu'HERLA (1) affirme qu'ils apparaissent seulement lorsque les pronucleus ont atteint leur diamètre définitif.

Nous ne pourrions parler de l'origine des corpuscules de la seconde segmentation qu'en analysant les couronnes polaires.

3° Leur nombre.

Leur nombre aux étapes qui précèdent la cinèse est variable :

a) Lorsque les noyaux sexuels *ne se fusionnent pas*, on en trouve un, souvent deux, trois ou même quatre dans chacun d'eux.

KULTSCHITSKY pensait qu'ils étaient toujours en nombre égal dans chaque pronucleus. Il n'en est rien. Tantôt il en a un dans le premier et deux ou trois dans le second, ou deux d'un côté et trois ou quatre de l'autre : en un mot, on trouve toutes les combinaisons possibles durant la maturation des noyaux.

Nous croyons pouvoir donner la raison de cette variation. En effet, d'après ce que nous avons dit plus haut, on peut admettre que le chiffre quatre est le chiffre initial normal, ou du moins le plus fréquent pour chaque noyau. Or, pendant le développement, ils peuvent se fusionner à tous les degrés. On peut apporter deux preuves à l'appui de cette fusion. D'abord, on trouve fréquemment dans les noyaux sexuels deux corpuscules rapprochés et comme accolés, FIG. 17 *b* et 19, PL. I, ou du moins réunis par paire, FIG. 17 *a*, noyau de gauche, et FIG. 18. Ensuite, lorsque leur nombre est

(1) HERLA : *Étude des variations de la mitose chez l'ascaris megalocéphala*; Arch. de Biol., t. XIII, 1893, p. 431.

moindre que quatre, ils sont presque toujours d'inégal volume; on en voit un gros et deux petits, par exemple, FIG. 17 *a* et *b*, FIG. 19; le premier résulte de la fusion de deux plus petits. On nous objectera peut-être que les apparences seraient les mêmes, si l'on admettait l'existence d'un nucléole primitif unique, qui se diviserait une ou deux fois dans le cours du développement. En effet, les apparences seraient les mêmes. Mais on ne peut admettre cette explication, parce que dans les noyaux très jeunes, comme ceux de la FIG. 13, on trouve fréquemment trois ou quatre petits corpuscules égaux; ils apparaissent toujours plusieurs à la fois. Il en sera, d'ailleurs, de même dans les noyaux des générations suivantes.

Au moment où les noyaux sexuels entrent en mouvement, les corpuscules peuvent s'y trouver encore en nombre variable. Mais, *habituellement il n'y en a plus qu'un seul*; parfois cependant on en voit deux, très rarement trois.

HERLA n'a jamais constaté, dit-il, qu'un seul nucléole dans les noyaux de *l'univalens* arrivés à maturité. On en trouve aussi deux, et mêmes trois dans cette variété, FIG. 2, PL. II; mais ces cas sont rares.

b) Lorsque les noyaux sexuels *se sont fusionnés* avant la cinèse en un noyau unique, on peut y trouver de 8 à 1 corpuscules; nous en avons souvent compté 7, 6 et 5 au début de la fusion. Chez un individu exceptionnel où *presque tous les noyaux étaient fusionnés*, il nous a été facile de constater ces faits. Nous y avons trouvé tous les intermédiaires entre 8 et 1; le plus souvent ils se sont fusionnés en *deux nucléoles* volumineux au moment de la segmentation.

C'est cet individu qui a fourni nos FIG. 19 à 24.

Nous avons pu constater aisément ici la fusion des corpuscules. En effet, on pouvait en compter 3 ou 4 dans les noyaux contigus où la fusion ne faisait que commencer au point de contact. Après la fusion ce nombre tend à diminuer: on en compte 6, 5, 4 et 3; en même temps on trouve des nucléoles accolés, FIG. 19, et de volume très inégal. Lorsque la fusion est complète, c'est-à-dire lorsqu'il n'y a plus qu'un seul corpuscule, celui-ci est énorme. Ce cas d'un corpuscule unique n'est pas commun, mais il n'est pas très rare non plus. *Habituellement il y en a deux*, parfois trois et même quatre, au moment de la cinèse.

c) Les noyaux destinés aux segmentations suivantes présentent aussi un nombre variable de corpuscules. Néanmoins le chiffre *deux* est de loin le plus fréquent chez les deux variétés, comme on peut le constater sur nos deux planches. On en trouve cependant trois, FIG. 37, à droite, rarement

quatre, parfois *un seul*, et ce cas n'est pas très rare, FIG. 35 et 36, à gauche, PL. I. Au moment où le noyau se reforme ils sont souvent plus nombreux que par la suite; ils peuvent donc aussi se fusionner pendant le développement du noyau.

4° *Leur rôle.*

Le rôle des corpuscules nucléaires a été méconnu. Les auteurs qui se sont occupés des nucléoles de l'*Ascaris*, affirment qu'ils disparaissent; un peu plus tôt pour les uns, un peu plus tard pour les autres, en se dissolvant soit dans le noyau, soit dans le cytoplasme. BOVERI et HERLA pensent contrairement à l'opinion de FLEMMING, qu'ils ne sont pas absorbés par l'élément nucléinien. Tous sont unanimes à affirmer qu'ils ne servent pas à la division. HERLA est plus catégorique encore : il nie formellement tout lien de parenté entre le nucléole et le corpuscule de division. - Une étude minutieuse de nos préparations, dit-il à la p. 420, m'a convaincu qu'il n'existait aucun rapport entre ces deux corps : l'un, le nucléole, disparaissant toujours avant que l'autre, le corpuscule central, ne fût visible. -

A part BOVERI, qui soutient que le nucléole disparaît seulement après la dissolution de la membrane nucléaire, les auteurs s'accordent à placer cette disparition au stade de peloton. Ils disparaissent quand le cordon commence à s'organiser, dit HERLA; et KULTSCHITZKY dit de même : il est très difficile de constater encore la présence du nucléole au stade de peloton lâche. Il en est bien ainsi, l'opinion de BOVERI est erronée. C'est à dessein que nous insistons sur ce fait.

Voyons en effet, ce que deviennent les corpuscules nucléaires.

Et d'abord : *lorsque les noyaux se préparent à la cinèse, ces corpuscules émigrent dans le cytoplasme.*

a) Considérons d'abord le cas où il n'y a qu'un noyau de segmentation, FIG. 20 à 24, PL. I.

Nous avons vu que, habituellement : normalement, pourrait-on dire, il y a deux nucléoles dans le noyau, FIG. 20. Nous avons déjà fait remarquer qu'à cette époque, c'est-à-dire lorsque le filament nucléinien commence à se marquer nettement, il n'est pas possible de découvrir la moindre trace d'un organite quelconque dans le cytoplasme : celui-ci est parfaitement régulier et homogène dans toutes ses parties, même près du noyau. Cependant on y voit bientôt apparaître les corpuscules. Dans la FIG. 21, un seul est sorti, l'autre est encore à l'intérieur, mais contre la membrane.

Dans la FIG. 22, ils sont sortis tous les deux; il n'est plus possible d'en trouver à l'intérieur du noyau.

On voit que l'endroit de leur sortie est variable. Sur la FIG. 21, ils seront à l'opposite l'un de l'autre, à peu près, et ils se trouveront sensiblement aux pôles du futur fuseau. Sur la FIG. 22, ils sont sortis l'un près de l'autre; ils devront donc s'éloigner pour venir occuper les pôles de la figure.

On peut constater aussi qu'ils restent près de la membrane nucléaire; ils ne s'en éloignent guère.

Il arrive, avons-nous dit, qu'il n'existe qu'un seul nucléole volumineux dans le noyau. Il doit alors fournir à lui seul les deux centrosomes de la figure; il doit se diviser. Nous ne pouvons dire si cette division se fait avant ou après la sortie. Nous pouvons affirmer seulement que nous n'avons jamais vu de corpuscules se diviser dans le cytoplasme. D'après certaines images qu'on rencontre à la seconde segmentation, nous sommes portés à croire que la division a lieu à l'intérieur du noyau.

b) Lorsqu'il y a deux noyaux de conjugaison, les phénomènes sont les mêmes, seulement *chacun* des noyaux livre un corpuscule polaire. Ce fait est de la plus haute importance : FIG. 25 à 30, PL. I; FIG. 1 et FIG. 4—6, PL. II.

Dans la FIG. 25, on aperçoit un gros corpuscule dans chacun des noyaux.

Sur la FIG. 26, le corpuscule du noyau de droite est sorti, celui du noyau de gauche est encore au repos. Il en est de même dans la FIG. 27, seulement il y a deux corpuscules dans le pronucleus de gauche. Dans les deux figures suivantes, il sont sortis récemment; les noyaux en sont dépourvus.

Sur toutes ces figures, les nucléoles sortent à l'endroit voulu pour qu'ils viennent immédiatement occuper les pôles des figures cinétiques. Il n'en est pas toujours ainsi, bien que ce cas soit de loin le plus fréquent dans nos préparations. Parfois ils sortent tous deux au même pôle; ils sont alors l'un près de l'autre, — comme dans la FIG. 22 —; parfois aussi ils sortent latéralement : soit obliquement, soit en position équatoriale par rapport à la figure future, etc.

Les mêmes phénomènes se passent chez l'*uniraleus*.

Dans la FIG. 1, PL. II, on voit un gros corpuscule dans chacun des noyaux encore au repos. Sur la FIG. 4, le corpuscule du noyau de droite est sorti, tandis que celui de l'autre y est encore renfermé. La FIG. 5 est intéressante : deux nucléoles sont dans le cytoplasme, mais il en existe encore un dans un noyau : l'un des pronuclei en avait deux. Le corpuscule du noyau de gauche est sorti latéralement, à peu près à l'équateur de la figure future. Nous

avons dit que cette particularité se présente aussi parfois chez le *bivalens*. Enfin, dans la FIG. 6, les corpuscules sont sortis en position polaire : c'est la règle générale. Il arrive cependant aussi, comme chez l'autre variété, que les corpuscules des deux noyaux se libèrent à un pôle et se trouvent plus ou moins rapprochés, comme dans la FIG. 22, PL. I.

A la seconde segmentation, ainsi qu'à toutes les divisions suivantes, on constate exactement les mêmes faits. Donnons seulement quelques exemples, pris dans les deux variétés.

Dans la FIG. 37, PL. I, les deux corpuscules de la cellule de gauche viennent de sortir; car ils n'ont encore produit qu'une légère modification dans le réseau du cytoplasme et l'auréole granuleuse n'existe pas encore. Les trois corpuscules de la cellule de droite sont encore internes; ce sont vraisemblablement les deux qui sont plus rapprochés de la membrane qui prendront part à la division.

La FIG. 38 est à peu près au même stade; seulement les corpuscules sont déjà entourés d'une irradiation et d'une auréole assez large.

La FIG. 39 est digne d'attention. Dans la cellule de droite, les deux corpuscules sont sortis ensemble d'un côté, l'un près de l'autre, et leurs auréoles sont confluentes; on pourrait penser qu'on assiste à la division d'une sphère primitive unique. Dans le noyau de la cellule de gauche, les deux corpuscules sont encore à l'intérieur et ils sont presque contigus. Nous croyons que ces deux noyaux ne possédaient qu'un corpuscule unique, comme dans la FIG. 35. Ce corpuscule se diviserait immédiatement avant de quitter le noyau. Il en résulte, qu'après leur expulsion, les deux corpuscules jumeaux se retrouvent à une faible distance l'un de l'autre. On sait que BRAUER a décrit aussi la division du centrosome des spermatocytes de l'*Ascaris univalens* à l'intérieur du noyau, avant son émigration.

Les FIG. 17 à 23, PL. II, extraites de l'*univalens*, montrent tous les stades de la sortie.

Dans la FIG. 17 et dans la FIG. 22, en bas, ils sont accolés à la membrane et sont sur le point d'émigrer. Dans la FIG. 18, ils sont en voie d'émigration : il y en a un de sorti de chaque noyau. Le second de la cellule supérieure est engagé dans la membrane; celui de la cellule inférieure est encore dans le noyau.

Nous appelons l'attention sur ce fait, que les corpuscules récemment sortis, sont encore nus, tels qu'ils l'étaient dans le noyau; ils ne sont entourés d'aucun rayon astérien, ni d'aucune auréole granuleuse. En effet, ils n'ont pas encore eu le temps d'agir sur le cytoplasme. On constate le même

fait sur la cellule inférieure des FIG. 19 et 20, et sur la cellule supérieure de la FIG. 23; on n'y voit non plus la moindre trace d'aster ni d'auréole. L'aster est en voie de formation sur les cellules supérieures des FIG. 19, 20, 22, ainsi que sur la cellule inférieure des FIG. 23 et 24, parce que les corpuscules sont sortis depuis quelque temps déjà. On peut suivre aisément tous les stades de cette formation chez l'*univalens*.

Faisons aussi remarquer que nous avons vu, à plusieurs reprises, chez l'*univalens* surtout, des corpuscules encore engagés dans la membrane nu- comme dans la FIG. 18.

Il est difficile de voir le corpuscule en train de s'échapper du noyau. En effet, jamais nous n'avons pu saisir la moindre boursouffure, la moindre ouverture ou déchirure dans la membrane nucléaire. Ici, on trouve ce corps contre la face interne de la membrane; là, on le trouve au dehors, contre la face externe. On doit admettre, nous semble-t-il, qu'il digère la portion de la membrane qu'il vient à toucher; il se fait une trouée comme à l'emporte-pièce, rien de plus. Nous n'avons pas rencontré d'image semblable à la fig. 131 de BRAUER, tirée des spermatocytes de l'*Ascaris univalens*, dans laquelle la membrane est largement ouverte. Nous croyons que dans cette figure les centrosomes sont sortis depuis quelque temps déjà, et que la membrane nucléaire est entrée ensuite en résolution; au moment où ils se sont échappés, BRAUER n'aurait pu voir cette image, à moins que les choses ne se passent tout autrement que dans les œufs en segmentation du même animal.

Le moment de la sortie du corpuscule est le même pour les deux segmentations. Ce moment est un peu variable, mais il coïncide toujours avec le stade peloton. Assez souvent le cordon est encore mince et très long, comme dans notre FIG. 27, PL. I, où les noyaux sont dessinés en coupe optique, et dans les FIG. 18 et 21, PL. II. Tantôt aussi, le peloton est déjà épais et plus court, FIG. 21, 22, 37, PL. I; FIG. 4, 19, 22, 33, PL. II. Enfin, parfois les anses de division sont déjà préparées qu'on trouve encore les corpuscules à l'intérieur du noyau ou en voie d'émigration, FIG. 3, 17, 20, PL. II; FIG. 25, 26, PL. I.

Remarquons ce fait très important : le stade peloton est précisément le moment que KULTSCHITSKY, HERLA, etc., assignent à la disparition ou dissolution de leurs nucléoles, d'une part; et d'autre part, celui qui est fixé par VAN BENEDEN et HERLA⁽¹⁾ pour l'apparition de leurs sphères attractives;

(1) La fig. 2 de VAN BENEDEN est manifestement au stade peloton de notre FIG. 27, PL. I.

par BOVERI, pour celle du centrosome archoplasmique; par KOSTANECKI et SIEDLECKI pour la réapparition de leur aire plasmatique et de son corpuscule. Cette triple coïncidence : disparition des nucléoles, apparition du centrosome, manifestation des sphères attractives ou plasmatiques, ne peut manquer de frapper le lecteur. Nous en connaissons maintenant le secret :

Les nucléoles disparaissent et semblent se dissoudre?

Ils pénètrent dans le cytoplasme. Si HERLA avait pu se servir de l'hématoxyline au fer, il les eût retrouvés, sans aucun doute.

Le centrosome de BOVERI, de KOSTANECKI, de v. ERLANGER?

C'est le corpuscule nucléaire qui vient d'émigrer dans le protoplasme.

Les sphères attractives ou plasmatiques?

Ce sont les asters avec leur auréole naissante, dont le corpuscule nucléaire détermine l'apparition aussitôt son arrivée dans le cytoplasme.

Pour achever notre démonstration, il suffira de rappeler que les corpuscules internes et externes ont exactement les mêmes propriétés vis-à-vis des matières colorantes, et ces propriétés sont celles des centrosomes de division. En outre, ils ont exactement le même aspect, la même forme et le même volume; impossible de les distinguer les uns des autres. Enfin, lorsqu'on aperçoit un corpuscule seulement à l'extérieur, on en trouve toujours un encore à l'intérieur, et alors il est le plus souvent situé contre la face interne du côté opposé. Quand on en voit deux au dehors, il n'y en a plus du tout dans le noyau. On constate les mêmes faits sur les deux noyaux de conjugaison. Lorsqu'on trouve un centrosome externe, l'un des noyaux en est dépourvu; aucun des deux n'en possède, s'il y en a deux dans le cytoplasme.

Nous entendons parler des cas les plus fréquents, qu'on peut appeler normaux : celui où les deux pronuclei n'ont qu'un nucléole, et celui où les noyaux conjugués et les noyaux de segmentation n'en possèdent que deux.

Lorsque les corpuscules sont plus nombreux, il en reste évidemment un, parfois deux dans le noyau jusqu'à la résolution de la membrane.

Ainsi, d'après nos observations, *les nucléoles, chez l'Ascaris, servent de corpuscule central dans la figure de division*. Les nucléoles ne seraient donc que des centrosomes au repos, attendant le moment voulu pour se mettre en activité.

Or, cette activité, nous le savons déjà, se manifeste par la formation des asters et du fuseau. Nous allons nous en occuper.

§ II.

*Les asters.*1. *Formation.*

Lorsque le corpuscule sort, il est nu, c'est-à-dire sans zone hyaline. On le retrouve tel près de la membrane nucléaire, immédiatement après son entrée dans le cytoplasme, FIG. 4, PL. II. Il conserve ses caractères primitifs : il est sphérique et homogène; nous n'avons rencontré ni à cette époque, ni plus tard un seul exemple de corpuscule central formé d'un amas de granules; ce qui serait normal chez l'*Ascaris*, d'après VAN BENEDEN. Sur nos préparations, on n'y aperçoit jamais les vacuoles, ou alvéoles signalées par BÜTSCHLI et VON ERLANGER(1). Ce dernier auteur avoue d'ailleurs que les alvéoles se voient seulement avec netteté sur les préparations conservées dans la glycérine; celle-ci, en effet, rend aisément vacuoleux les corps nucléo-albumineux, qui ont un pouvoir osmotique considérable. Les alvéoles sont donc des productions artificielles, ou accidentelles.

Cet état dure peu. Aussi, faut-il chercher quelquefois assez longtemps pour rencontrer des corpuscules nus dans le cytoplasme; il arrive cependant qu'on en trouve plusieurs dans une même coupe. Ils nous ont paru plus fréquents dans la seconde segmentation, FIG. 18, 19, 20, 23, PL. II.

Bientôt se marquent trois phénomènes concomitants : le corpuscule diminue, il s'entoure de granules et le cytoplasme s'irradie, FIG. 21, 26, 27, 28, PL. I.

La diminution de volume peut se constater sur les FIG. 21 et 26, par la comparaison du nucléole sorti avec celui qui est encore renfermé dans le noyau. Sur les autres figures, on voit également que les corpuscules sont réduits, si on les met en regard des corpuscules en repos des FIG. 20 et 25. Cette diminution n'est pas toujours sensible, parce que, ainsi que nous l'avons dit, les nucléoles d'un noyau, quand ils sont plusieurs, ont souvent des dimensions différentes.

L'apparition des granules et des rayons est très visible également dans ces dessins; ils le sont autant sur les FIG. 5 et 6, PL. II.

La FIG. 28 marque le début du phénomène; les granules sont rares et le réseau n'est guère modifié dans son ordonnance. Les rayons sont déjà mieux marqués dans les FIG. 21, 26 et 27, et l'auréole granuleuse s'étend peu à peu. Ce double phénomène s'accroît sur les FIG. 29, 22 et 23. Dans

(1) V. ERLANGER : *Neuere Ansichten, etc.*; Zool. Centralblatt, t. III, n° 9, 1896, p. 305.

la première de ces figures, l'auréole est beaucoup plus dense que dans les deux autres; dans celles-ci, au contraire, les rayons sont plus visibles, surtout vers le centre, précisément parce que cette région est plus pauvre de granules. Il est très aisé de constater sur toutes ces images, que les rayons ne sont qu'une modification du réseau cytoplasmique originel : les trabécules s'y ordonnent radialement en s'accroissant un peu. Quant à l'auréole sombre, elle est due à une modification introduite dans l'enchylème primitif; celui-ci, d'hyalin qu'il était, s'est chargé sur un certain périmètre d'un grand nombre de sphérules minuscules. L'enchylème des mailles est maintenant répandu entre les rayons, et c'est là que se trouvent les granules. Les rayons eux-mêmes en sont dépourvus; ils sont toujours unis, non noueux; quand ils paraissent moniliformes, c'est uniquement parce que les granules enchylémateux sont blottis ou collés contre eux. Ces détails se voient avec netteté lorsque l'auréole est peu fournie; lorsqu'elle est dense, ce qui arrive assez souvent, FIG. 29, ils sont plus difficiles à constater. Néanmoins, sur des coupes minces, surtout quand le rasoir sort en entamant un de ces petits asters, l'indépendance des rayons vis-à-vis des granules est évidente.

Les rayons débutent contre le corpuscule sur tout son pourtour; c'est pourquoi ils y aboutissent. Cette disposition se maintiendra pendant toute la cinèse. Le corpuscule produit le rayonnement et en reste le centre. Cependant il n'y a pas de connexion organique entre ces éléments; le centrosome reste libre; cela se voit très bien lorsqu'il se dissout tôt après la cinèse, comme dans les FIG. 10 et 26, PL. II; l'espace qu'il y occupait est toujours vide de filaments ou de rayons.

En résumé, sous l'influence du corpuscule, les trabécules du réseau cytoplasmique se mettent en mouvement et s'ordonnent radialement; en même temps, chez l'*Ascaris*, l'enchylème hyalin se remplit de granules ténus, interposés aux rayons. Ainsi se forme l'aster, et telle en est la constitution. Nous n'ajoutons rien à la description qui en a été faite pour la première fois, en 1885, dans la *Cytodièrese*.

Aussitôt établis, l'aster et son auréole s'étendent progressivement pendant que la figure se développe et achève son évolution, FIG. 23, 24, 30 et 31, PL. I; FIG. 5, 7 et 8, PL. II. On voit sur ces figures que l'irradiation grandit jusqu'au stade des couronnes polaires. C'est seulement alors que les asters sont dans tout leur épanouissement. Nous n'ignorons pas que les observateurs font généralement coïncider ce moment avec le stade de la couronne équatoriale. Mais sur les matériaux fixés par notre méthode, il n'en est pas

ainsi; en général, la différence d'étendue des asters au stade équatorial et au stade polaire est frappante sur nos coupes.

Il en est de même de l'auréole granuleuse; elle s'étend aussi progressivement, mais lentement jusqu'à la fin du stade de la couronne équatoriale. A partir de ce moment, elle grandit rapidement, FIG. 7, 8, 9, PL. II; 24, 31 et 32, PL I. Nous reviendrons plus loin sur ce phénomène.

Nous avons vu que les rayons astériens naissent sur place dans le réseau, par une simple modification dans l'orientation des trabécules; à leur extrémité ils doivent donc rester toujours en connexion avec les trabécules qui sont encore au repos. Ce fait est frappant chez l'*Ascaris*, lorsqu'on emploie un liquide qui tue très rapidement les œufs et qui en même temps les anesthésie fortement, de façon à ce qu'aucune modification sensible ne puisse se produire dans le réseau cytoplasmique avant qu'il se soit momifié, fixé. On peut suivre aisément cette connexion sur la plupart de nos figures; sur le périmètre extérieur des asters, tous les rayons y sont en liaison organique avec les trabécules du réseau.

II. *Modifications des corpuscules.*

Pendant le développement de l'aster, le corpuscule subit de légères modifications. Après avoir diminué de volume, parfois notablement, il ne tarde pas à se marquer davantage. Ses dimensions augmentent peu à peu, le plus souvent jusqu'au stade des couronnes polaires, voire même jusqu'à la reconstitution complète des nouveaux noyaux, FIG. 7, 8, 11 à 14, PL. II. Il est impossible néanmoins de formuler aucune règle à cet égard; ainsi, dans les figures équatoriales, tantôt il est très gros, tantôt au contraire beaucoup plus petit que sur certains œufs aux stades antérieurs. De même, dans les figures polaires. Cela dépend de la rapidité avec laquelle il se gonfle et se dissout.

Il se dissout, en effet. A peine entré dans le cytoplasme, il perd de sa substance; il se réduit, et l'on doit admettre que sa partie périphérique se liquéfie d'abord. C'est le fait de cette réduction qui nous avait engagés à rechercher si le corpuscule au repos n'était pas formé de deux parties: une zone périphérique se dissolvant plus aisément, et un nodule central plus résistant. Nous n'avons pu élucider ce point.

Tous les phénomènes qui se passent ensuite dans les figures indiquent nettement que le corpuscule n'a qu'une existence temporaire, et finit bientôt par se fondre entièrement. Cela étant, il est tout naturel d'admettre que l'augmentation de volume qu'il subit aux stades intermédiaires des figures est due à un phénomène d'imbibition, précurseur de la dissolution.

Il est aisé d'expliquer, grâce à ces faits, comment le corpuscule agit pour produire les asters et son auréole. Il est riche en nucléo-albumine qui, en se dissolvant, se répand d'abord dans le cytoplasme qui l'environne immédiatement. Ces substances, nous l'avons répété, jouissent de la propriété de mettre en jeu l'irritabilité du réseau et d'y déterminer une pullulation ou une irradiation. En outre, elles réagissent sur les composés albumineux de l'enchylème ovulaire en donnant naissance aux granules nucléo-albuminifères des auréoles. D'après nous, on le voit, l'action du corpuscule de division serait tout à fait comparable à celle du corps spermatique sur le protoplasme de l'œuf. Les granules de l'auréole astérienne et ceux de la plage de fusion paraissent identiques; ils présentent en effet tous les mêmes caractères : la même résistance aux réactifs, la même aptitude aux colorations. Ainsi, l'hématoxyline au fer brunit aussi un peu l'auréole; après l'action des réactifs de VAN BENEDEN et de BOVERI, l'auréole aussi bien que l'archoplasme persiste et apparaît comme une sphère granuleuse sur la masse confondue du cytoplasme. C'est là, sans doute, ce qui a fait songer à une sphère attractive indépendante.

III. *Corpuscules superflus.*

Lorsqu'il y a deux ou trois corpuscules dans chacun des noyaux de conjugaison, ce sont les deux premiers sortis qui deviennent actifs et contribuent à la formation des asters. Les autres semblent rester immobiles dans le noyau et se libérer seulement après la disparition de la membrane nucléaire; nous n'en avons jamais vu trois à la fois hors de la membrane avant l'élaboration du fuseau. Mais on en trouve parfois, quoique rarement, près du fuseau tout formé : soit contre son sommet, soit un peu plus loin, en dessous des rayons astériens. Nous en avons vu aussi un, parfois deux, déjà beaucoup diminués de volume vis-à-vis d'une couronne équatoriale. Ces corpuscules superflus disparaissent donc sans être utilisés pour la division.

C'est là un phénomène intéressant. Car on pourrait croire que ces corpuscules multiples en s'échappant devraient produire des figures multipolaires. Il n'en est rien; nous n'en avons pas rencontré une seule pendant la préparation de ce travail. Une fois qu'il y a deux centres de radiation formés, le cytoplasme, dirait-on, est comme déterminé et fixé dans ses mouvements. Si un troisième corpuscule survient, son action est inopérante. Peut-être, faudrait-il admettre comme condition indispensable de la formation d'une figure multipolaire, la libération tout à fait simultanée de plusieurs corpuscules; ou bien, un état plus ou moins anormal ou pathologique du protoplasme, qui ne lui permette plus de fonctionner normalement.

IV. *Les auteurs.*

Tous les auteurs n'ont pas compris comme nous la formation et la constitution des asters.

KULTSCHITZKY et VON ERLANGER n'admettent pas plus que nous de sphère attractive ou autre, préexistant à la division, et qui contribuerait à la formation de l'aster. D'après le premier de ces auteurs, l'aster naît dans le protoplasme ordinaire. Au moment de la cinèse, VON ERLANGER ne trouve que le corpuscule plongé dans le cytoplasme ovulaire. Ces deux savants admettent donc, comme nous, que l'irradiation astérienne est tout entière d'origine cytoplasmique.

Pour VAN BENEDEN, le centre de l'aster est occupé par sa sphère attractive, autonome et indépendante, et celle-ci prend part à sa formation. En effet, pour lui, les asters se constituent d'une portion centrale, la sphère attractive, à fibrilles très apparentes, et d'une portion corticale ou périphérique, située dans le vitellus où les fibrilles sont beaucoup plus minces (1). Les asters auraient donc une double origine, et seraient formés de deux parties raccordées.

Nous savons que la sphère autonome n'existe pas. Elle ne peut donc fournir la partie centrale des asters.

Nous avons vu plus haut (2) quelle idée VAN BENEDEN s'était faite de la constitution de sa sphère. Nous ne pouvons partager sa manière de voir. Les fibrilles de la sphère, c'est-à-dire de l'aster, ne sont pas munies de points nodaux. Ces points ne sont autre chose que les granules enchylémateux de notre auréole centrale; ils sont entre les fibrilles et n'entrent jamais dans leur constitution; ils peuvent seulement s'y accoler et cheminer sur elles. L'auteur a versé ici dans la même confusion que pour le spermatozoïde (3), il a fait entrer les granules de l'enchylème comme élément constitutif dans le réseau.

BOVERI renchérit sur VAN BENEDEN. Celui-ci, du moins, admettait que la partie corticale des asters était due au cytoplasme; mais pour BOVERI ce dernier n'y contribue peu ni point. On pourrait croire, dit cet auteur (4), que les rayons des asters se sont différenciés dans le cytoplasme, mais il n'en est rien: on peut prouver avec certitude que ces filaments sont dus à la transformation de la couche périphérique de l'archoplasme. Les microsomes

(1) VAN BENEDEN et NEYT : *Nouvelles recherches*, etc., p. 203.

(2) Voir plus haut, ch. III, Sphères attractives.

(3) Cf. devant, p. 81.

(4) BOVERI : *L. c.*, pp. 79, 97 et 80.

se disposant radialement et se reliant par des fibrilles (il ne dit pas d'où elles viennent!), il en résulte un filament continu dont les microsomes forment les renflements. Ces filaments s'étendent, rayonnent dans le cytoplasme de tous côtés et gagnent de plus en plus en longueur, aux dépens de la partie centrale de l'archoplasme. Celui-ci diminue ainsi graduellement d'étendue, et il arrive que les microsomes les plus centraux disparaissent eux-mêmes en subissant cette transformation en rayons. En résumé, les asters dérivent exclusivement de la substance de l'archoplasme.

Il est à peine besoin de réfuter une pareille opinion. L'archoplasme n'existe plus depuis longtemps. Les microsomes sont des granules de l'enchylème, tout à fait et toujours indépendants des filaments ou rayons. Les fibrilles qu'on fait surgir à point nommé ne sont autres que les trabécules ordinaires du cytoplasme, etc. La description de BOVERI est toute de fantaisie.

§ III.

Sort des corpuscules et des asters.

Nous avons laissé le corpuscule et les asters au stade des couronnes équatoriales et polaires.

Quel est leur sort ultérieur?

Le corpuscule est voué à la dissolution, il disparaît sans laisser de trace. Il ne se divise donc pas pour fournir les corpuscules de la segmentation suivante.

Les asters s'effacent à leur tour, sans se diviser jamais.

Nous nous trouvons, ici encore, en contradiction avec VAN BENEDEN, BOVERI, HERLA, KULTSCHITZKY, KOSTANECKI et SIEDLECKI, VON ERLANGER, c'est-à-dire avec tous ceux qui ont écrit depuis 1887 sur la segmentation de l'*Ascaris megalocephala*, ainsi qu'avec la plupart des savants qui ont étudié la segmentation chez une foule d'autres animaux. Il serait oiseux de les citer tous et de faire une critique détaillée de leurs observations. Contentons-nous d'étudier soigneusement les faits chez l'*Ascaris*.

Nous tenons à faire remarquer tout d'abord que nous avons eu bien soin de décolorer au mordant lentement et modérément, même d'une manière insuffisante pour rendre le protoplasme hyalin, afin d'être à l'abri de toute objection, d'être certains que les centrosomes n'étaient pas devenus indistincts par le départ de l'hématoxyline. Il est facile d'ailleurs de s'assurer de l'état des préparations en les examinant itérativement au microscope.

Lorsqu'elles sont réussies, les centrosomes sont tous d'un noir d'ébène, même quand ils sont réduits à l'état de granulations à peine perceptibles, comme dans la FIG. 33, à gauche.

1° *Les corpuscules et les asters disparaissent.*

Examinons d'abord, chez le *biralens*, les FIG. 31 et 32, PL. I, qui vont arriver au stade des couronnes polaires. Dans la première, les deux corpuscules volumineux existent encore; dans la seconde l'un a disparu déjà, l'autre s'est aplati et allongé transversalement. Les images comme celles de la FIG. 32 ne sont pas si rares qu'on pourrait le penser, nous les avons rencontrées assez souvent; maintes fois aussi les deux corpuscules avaient déjà disparu à ce stade.

Sur ces deux figures, les asters étaient très développés, beaucoup plus que sur les figures précédentes. Les rayons plastiniens sont encore bien conservés et bien visibles. Mais l'auréole granuleuse est en voie de désagrégation. Les granules s'en détachent et se répandent au loin sur les rayons. Sur la cellule de droite, FIG. 32, l'aster s'est aplati avec le corpuscule; ailleurs il a conservé sa forme.

La FIG. 33 marque un stade plus avancé, il y a déjà quelque temps que les noyaux sont reformés. Les rayons astériens y ont complètement disparu. Mais les corpuscules y existent encore; cependant ils sont déjà réduits; l'un d'eux n'apparaît plus que comme un granule ténu. On voit aussi que l'auréole a diminué considérablement d'étendue et d'intensité; il n'en reste plus que la partie centrale, surtout à gauche.

La FIG. 34 est à peu près au même stade. On n'y voit plus trace de corpuscules; les rayons ont presque disparu, mais l'auréole granuleuse est encore très fournie.

Dans les FIG. 35 et 36, les phénomènes sont plus avancés. On n'y voit plus que les derniers vestiges de l'auréole; celle-ci a disparu entièrement sur la cellule de gauche de la FIG. 36. Enfin, sur la FIG. 37, où les noyaux entrent en mouvement pour la deuxième segmentation, le cytoplasme est revenu entièrement à l'état où il se trouvait avant la première division. Il ne reste donc rien ni des asters, ni de l'auréole, ni des corpuscules polaires.

Il en est de même chez l'*univalens*, non seulement à la première, mais à la seconde, à la troisième et à la quatrième segmentation. C'est surtout sur cette variété que nous avons pu constater facilement la disparition des corpuscules à chaque cinèse et leur néoformation.

Considérons les FIG. 9 à 18, PL. II d'abord, puis les FIG. 26 à 30.

Les FIG. 9 à 12 sont au stade de la couronne polaire; les corpuscules sont intègres en 9 et 11; l'un a disparu en 12; en 10 il n'y en a plus. Dans les FIG. 13 et 14, qui sont beaucoup plus avancées, les noyaux étant déjà reformés intégralement, ils existent encore et sont très volumineux; un seulement a disparu sur la FIG. 13. Enfin, dans la FIG. 15, il n'en reste plus de trace. A partir de l'étape de cette figure, *on les cherche en vain jusqu'à la segmentation suivante*.

On constate la même inégalité dans le moment de la disparition à la seconde division. Ainsi, dans la FIG. 26, où les couronnes polaires sont à peine formées, il n'y en a plus; de même dans la FIG. 29, moins avancée encore, en bas, un corpuscule a disparu, l'autre, ainsi que ceux de la cellule supérieure sont déjà très réduits. Au contraire, sur la FIG. 27 où les noyaux sont reconstitués, ils existent encore tous deux; sur la FIG. 30, il en reste encore un, volumineux. Aux stades qui suivent cette figure, on ne peut plus les mettre en évidence.

Il en est de même aux deux segmentations suivantes. Cette disparition est donc un phénomène général et régulier, bien qu'il se présente à des moments très différents.

Les *asters* s'effacent en même temps que les corpuscules : ici plus tôt, là plus tard, mais toujours et totalement.

Ils sont encore dans leur plein épanouissement dans la FIG. 9 et dans la FIG. 11; ils ont diminué considérablement sur les FIG. 10 et 12 qui sont au même stade que la FIG. 11. On peut suivre pas à pas sur ces figures la retransformation des rayons en réseau; sur la FIG. 12 elle est presque achevée.

Les *asters* se sont maintenus beaucoup plus longtemps sur la FIG. 14; ils y sont encore en pleine vigueur, alors que le noyau est déjà refait. Ils sont amoindris dans la FIG. 13. La transformation est beaucoup plus avancée au bas de la FIG. 15; en haut elle est complète, tout est redevenu réticulum ordinaire.

Cette métamorphose est indiquée encore on ne peut plus clairement sur les FIG. 26, 27 et 30 de la seconde cinèse.

Quant à l'*auréole*, elle suit la même marche dans sa disparition. Nous avons dit qu'elle augmente peu à peu d'étendue, à mesure que la substance du centrosome se dissout. Les granules, qui se forment ainsi continuellement dans l'enchyème de l'œuf, se répandent au dehors, en cheminant le

long des rayons, sur un périmètre qui s'accroît toujours jusqu'à épuisement du corpuscule. Nos fig. 8 à 14 montrent bien ce phénomène. A la fin ils sont distribués dans tout l'aster. La masse centrale s'épuise ainsi de plus en plus et finit par disparaître. Ces granules font partie de l'enchylème du réseau, lorsque celui-ci s'est reconstitué, et restent souvent accolés aux trabécules, ainsi que l'indiquent nos figures; c'est pour cette raison que les mailles sont hyalines. Les restes de l'auréole, fig. 15 et 26, persistent plus longtemps que les corpuscules; mais ils disparaissent avec l'achèvement du réseau, fig. 15 en haut, et cela, sans retour.

Chez l'*Univalens*, il ne reste donc non plus rien : ni des corpuscules, ni des asters, ni de l'auréole granuleuse.

Il résulte de ce que nous venons de dire que le corpuscule perd toute sa substance dans le cytoplasme. Ce corps n'est pas volumineux, mais il est très dense et, à en juger par l'immense quantité de granules qu'il contribue à produire, on doit dire que le corpuscule — et par conséquent le noyau — déverse, à chaque cinèse, dans les mailles du protoplasme une quantité appréciable de substances nucléo-albumineuses, qui sont peut-être de nature particulière et peuvent encore jouer un rôle dans la vie cellulaire.

2° *Les corpuscules et les asters ne se divisent pas.*

Mais, nous dira-t-on, s'il est vrai que les corpuscules et les asters s'évanouissent sans laisser de traces, comment expliquer que tous les auteurs, qui se sont occupés de la segmentation, décrivent la division du corpuscule et de la sphère à chaque cinèse, et la participation de ces nouveaux éléments à la cinèse suivante.

Examinons d'abord la première segmentation.

Pour VAN BENEDEN et HERLA, les deux sphères naissent simultanément :

En effet, nous savons que les deux corpuscules s'échappent souvent en même temps du noyau.

Pour BOVERI, KOSTANECKI et SIEDLECKI, elles naissent de la segmentation d'une sphère primitive :

Il suffit de jeter les yeux sur les figures de ces auteurs, pour en saisir l'explication et trouver la cause de leur méprise.

KOSTANECKI représente un œuf avec une sphère unique :

Il n'y avait encore qu'un corpuscule de sorti, comme dans nos fig. 26 et 27, Pl. I; le second sortira bientôt.

Dans les figures suivantes il en figure en voie de division apparente :

Les deux corpuscules étaient sortis côte à côte, et leurs auréoles respectives confluaient latéralement, comme dans notre FIG. 39, PL. I.

Il faut dire la même chose des figures 33 à 36 de BOVERI. Dans sa fig. 33, le centrosome paraît se diviser, mais l'auteur lui-même hésite à l'affirmer : ce pourrait être, dit-il, deux centrosomes contigus.

En effet, il en est ainsi. Sur cette figure, il y a deux corpuscules de libérés, et il en reste encore un dans chaque noyau : nous savons que les noyaux de conjugaison ont parfois deux de ces corps. Dans les figures suivantes du même auteur, il y en a deux au dehors, et il n'en figure plus à l'intérieur des noyaux : en effet, nous savons qu'en règle générale il n'y en a qu'un dans chacun d'eux.

Dans toutes ces figures, les corpuscules à leur sortie se sont trouvés près l'un de l'autre, et leurs auréoles se sont plus ou moins confondues. Comme BOVERI voulait trouver des sphères en division, il a porté son attention sur ces sortes de figures. Mais elles sont toujours rares. Dans tous les cas, loin de dériver d'une sphère unique, elles représentent toujours deux asters indépendants dès l'origine, et qui restent parfaitement distincts, malgré que leurs rayons viennent accidentellement s'entrecroiser.

Aux segmentations suivantes, les prétendues figures de division des corpuscules et des sphères n'existent pas davantage.

Plusieurs auteurs représentent, au stade des couronnes polaires et de la première reconstitution des noyaux, des corpuscules étirés latéralement, comme s'ils se divisaient par étranglement.

Ces figures existent, mais elles ne sont pas communes sur les préparations bien faites, et elles n'ont nullement la signification qu'on leur attribue. Elles sont dues à un aplatissement de l'aster et, par suite, du corpuscule qu'elles renferment ; nous en donnons un exemple dans notre FIG. 32, PL. I.

Quant aux figures des auteurs qui représentent deux corpuscules distincts et voisins, elles s'expliquent en admettant que ces corpuscules dérivent d'une fragmentation accidentelle du corpuscule primitif. Cette fragmentation existe souvent dans les figures des globules polaires, ainsi que nous l'avons dit. Mais nous ne l'avons rencontrée qu'une seule fois sur les figures de segmentation de l'*Ascaris*. Elle doit y être très rare. A moins qu'à l'aide des réactifs acétique, picrique et nitrique le corpuscule ne se désagrège plus facilement. Inutile, du reste, d'ajouter que ces figures n'ont pas d'importance, puisque les corps qu'on y trouve doivent se dissoudre avant la cinèse suivante.

D'ailleurs il faut noter que beaucoup d'observateurs ont affirmé que la segmentation du centrosome se faisait beaucoup plus tard, au stade peloton de la cinèse suivante. Or, nous savons que cette segmentation n'est qu'apparente; les corpuscules contigus qu'on trouve alors sont nouveaux et viennent de s'échapper des noyaux.

Quant à la prétendue division de l'aster, les auteurs ne l'ont observée qu'au moment où le noyau va entrer en cinèse. VAN BENEDEN seul, croyons-nous, a figuré — fig. 9 et 10 — un commencement de division de la sphère à côté de noyaux qui, d'après lui, sont encore assez éloignés de la cinèse. BOVERI affirme qu'il n'en a jamais vu si tôt; nous n'en avons pas vu d'avantage. Nous croyons que les noyaux de VAN BENEDEN sont à un stade plus avancé; d'après ses figures, on doit admettre qu'ils sont au stade initial du peloton, comme dans notre fig. 27, PL. I. Les deux sphères qui accompagnent chacun des noyaux des figures précitées de VAN BENEDEN sont de récente formation, et n'ont rien de commun avec les anciennes.

En résumé, ici, comme dans la première segmentation, les sphères ne *paraissent* se diviser que lorsque la cinèse se prépare, c'est-à-dire au moment où les corpuscules s'échappent du noyau et forment leurs auréoles. Celles-ci peuvent s'accoler lorsqu'elles sont rapprochées, et donner l'impression d'une division à l'observateur qui désire en trouver. Ces cas de confluence sont, du reste, rares; il faut souvent chercher une journée pour en trouver un exemple. Cela se conçoit; car les nucléoles, à leur sortie, occupent habituellement les futurs pôles ou leur voisinage immédiat.

D'ailleurs, si la division de la sphère était un phénomène général, comme l'admettent les auteurs, on en trouverait partout dans les coupes d'œufs en segmentation de l'*Ascaris*. En effet, en les parcourant l'observateur a sous les yeux des milliers d'œufs en cinèse, à toutes les étapes. Cela est d'autant plus vrai, qu'il est impossible de ne pas voir les auréoles quand elles existent. Or, nous le répétons, les cas d'auréoles confluentes de façon à donner l'image d'une haltère, la seule qui puisse faire songer à une division, sont presque introuvables, lorsque les œufs n'ont pas subi de rétraction ou de gonflement. En effet, même lorsqu'elles sont très rapprochées, les auréoles demeurent généralement très distinctes. D'ailleurs, cette division n'aurait aucun but. Car les nouvelles sphères qui en résulteraient ne pourraient être utilisées pour la cinèse suivante, attendu que les sphères qui fonctionnent alors sont de formation nouvelle et tout à fait indépendantes des anciennes.

§ IV.

Le fuseau.

Parlons d'abord de l'opinion des auteurs. Ils ont émis tous des vues différentes sur la formation et la constitution du fuseau.

Celui-ci, aux yeux de E. VAN BENEDEN (1), n'est qu'une portion différenciée des asters, dans les limites de laquelle les fibrilles se font remarquer par une plus grande épaisseur. Elle est formée de deux cônes qui se réunissent par leur base à l'équateur. Chaque cône ou demi-fuseau comprend deux portions, l'une polaire qui fait partie des sphères attractives, l'autre, équatoriale qui correspond à la partie périphérique ou protoplasmatique des asters. Le fuseau, comme l'aster, a donc une double origine.

Pour BOVERI, les sphères archoplasmiqes envoient un certain nombre de rayons dans le noyau, rayons qui se réunissent à l'équateur pour constituer le fuseau; celui-ci est donc l'œuvre exclusive de ces sphères.

KULTSCHITZKY, qui n'admet pas les sphères attractives, fait dériver le fuseau tout entier des asters, c'est-à-dire du protoplasme modifié. - Nul doute, dit-il, que les *Richtungssonnen* ne fournissent le fuseau -.

Enfin, KOSTANECKI admet les idées d'HERMANN quant au mode de formation du fuseau. Lors de la division de son aire plasmatique, qui vient de réapparaître, les deux moitiés restent unies par un petit faisceau de filaments, qui deviendra le fuseau central; les filaments périphériques, - *Mantelschicht* -, proviennent des asters.

On le voit, pour tous ces auteurs, le noyau demeure complètement étranger à l'élaboration du fuseau.

Seul, VON ERLANGER a récemment émis l'avis que le fuseau dérive en grande partie des pronuclei, conformément à ce qui avait été dit et figuré plusieurs années auparavant par l'un de nous (2).

Les sphères attractives, archoplasmiqes, plasmatiques n'existant pas comme telles, ne peuvent rien produire, pas plus le fuseau que les asters.

Nous avons vu, d'autre part, que ces prétendues sphères ne se divisaient pas; elles sont donc incapables de donner naissance au fuseau central de HERMANN et de KOSTANECKI; un tel fuseau ne peut exister.

(1) E. VAN BENEDEN et NEY : l. c., p. 263, 265.

(2) J. B. CARNOY : *La segment. de l'œuf chez les nematodes*; La Cellule, t. III, p. 67, 1887.

Ces deux points ont été suffisamment discutés; nous n'avons plus qu'à nous occuper de l'opinion de ceux qui attribuent au fuseau une origine cytoplasmique.

1° *Structure des noyaux.*

Nous avons étudié avec un soin tout spécial cette question de l'origine du fuseau chez les nématodes. Nos recherches récentes sur *l'Ascaris megalocephala* n'ont fait que confirmer nos observations antérieures : *Le fuseau, ici comme partout, est d'origine nucléaire*; il est l'œuvre du noyau (1).

La plupart des observateurs qui ont étudié *l'Ascaris*, principalement les partisans des sphères de division, se sont, croyons-nous, laissés influencer par des idées préconçues, qui leur ont fait prendre des apparences pour des réalités. Il faut dire aussi qu'ils sont loin d'admettre nos idées sur la constitution du caryoplasme. C'est ainsi que BOVERI, VAN BENEDEN, etc., à propos du noyau, parlent constamment de vacuole, de vésicule, etc., dans laquelle plongerait l'élément nucléinien. Toujours l'ancienne *Kernsafft* qui hante les esprits! Aussi, ne trouvons-nous aucun indice de notre caryoplasme réticulé dans les figures de VAN BENEDEN, BOVERI, KULTSCHITZKY, KOSTANECKI, etc. Il est vrai qu'en employant leurs réactifs fixateurs, il est bien difficile de conserver les structures délicates; nous avons déjà traité ce sujet dans notre introduction.

Notre réseau plastinien est cependant bien évident sur tous les noyaux de conjugaison, traités suivant de bonnes méthodes, surtout à partir du moment où l'élément nucléinien arrive à tapisser la membrane. Car, alors plus rien ne masque le caryoplasme et l'intérieur du noyau peut être fouillé aisément.

Nous avons reproduit aussi exactement que possible cette portion du noyau dans nos figures, à partir de la FIG. 16, PL. I, et de la FIG. 1, PL. II. Partout on y distingue un réticulum magnifique et un enchylème légèrement granuleux, *structure qui rappelle de tout point celle du cytoplasme extérieur*. Il serait difficile de trouver de plus beaux exemples de l'organisation nucléaire typique que dans les noyaux sexuels des nématodes, aux étapes qui précèdent la cinèse. Il semble cependant qu'on n'ait pas observé cette structure; ce qui est certain, c'est qu'on n'y a pas attaché toute l'importance qu'elle mérite. Car, c'est ce réticulum caryoplasmatique qui fournit le fuseau de division.

(1) J. B. CARNOY — Ibidem. — *La Cytodivision*, La Cellule, 1885. — J. B. CARNOY et LEBRUN — *La vésic., etc. des batraciens*; l. c., p. 202.

Mais, avant d'aller plus loin, nous devons dire un mot de la position des noyaux sexuels.

2° *Leur position.*

En règle générale, lorsque la fusion n'a pas eu lieu, les deux noyaux sexuels sont très rapprochés l'un de l'autre; le plus souvent ils sont même accolés. Témoins nos FIG. 14, 15, 25, 26, 28 et 29, PL. I et FIG. 1-6, PL. II. Plus rarement, ils se maintiennent à une certaine distance, FIG. 27. Ce dernier cas se présente surtout lorsque les corpuscules sortent très tôt, alors que le boyau nucléinien est encore mince, comme l'indique cette figure.

Dans ses fig. 32, 33, 35, 37, 56, 62 et 63, BOVERI représente les noyaux à une très grande distance. Ces figures, pour nous, ne sont pas naturelles. En outre, il est manifeste que les fuseaux de ses fig. 40 à 42, 60, sont déchirés et écartelés. Tout cela est le résultat du gonflement produit par des réactifs (1). Jamais, on ne voit rien de semblable sur les préparations traitées par un fixateur fidèle. Tout ce que BOVERI dit de la formation du fuseau, de l'attache des filaments aux bâtonnets de la couronne, en s'appuyant sur de pareilles figures, tombe donc à faux; nous ne nous y arrêtons pas davantage. Les auteurs qui sont venus après lui n'ont, du reste, rien figuré d'aussi aberrant. Néanmoins, dans les fig. 1 et 26 de KOSTANECKI, les noyaux nous semblent avoir été écartés également par le réactif; l'état dans lequel se trouve l'élément nucléinien indique assez que les cellules ont été altérées.

3° *Formation du fuseau.*

Nous avons dit que le fuseau prenait son origine dans le caryoplasme.

En effet, quand on examine attentivement les noyaux de conjugaison uniques ou doubles, au moment où les corpuscules viennent de s'en échapper et commencent à former leur auréole, il n'est pas très rare de rencontrer les FIG. 23 et 29, PL. I; nous en avons relevé une cinquantaine de semblables dans nos croquis. On voit, sur ces figures, la transformation du réseau plastinien du noyau en filaments longitudinaux. Au début, ceux-ci ne font que s'indiquer vaguement, mais au stade de nos figures ils sont déjà de toute évidence, malgré que la transformation du réseau ne soit pas complète. Ils sont encore ondulés, lâches, plus ou moins enchevêtrés et reliés par des trabécules transversales ou obliques. La membrane du noyau a cependant

(1) Voir à l'introduction, p. 65 et 66.

conservé toute son intégrité; elle est encore aussi marquée qu'auparavant; on n'y remarque ni ouverture, ni plage de dissolution.

L'orientation du caryoplasme commence toujours à se dessiner aux pôles, contre les corpuscules, bien que ceux-ci en soient apparemment séparés par la membrane nucléaire. Elle commence en un point qui sert de centre et gagne de proche en proche, comme cela a lieu pour les asters. Lorsque les corpuscules ne sont pas sortis en même temps, elle se marque d'abord près de celui qui s'est échappé en premier lieu: ce dont on peut juger par le développement de l'auréole qui l'entoure. Il faut conclure de là que c'est, avant tout, sous l'influence du corpuscule que le fuseau intérieur s'élabore, tout aussi bien que l'aster lui-même. L'un se forme dans le noyau, l'autre dans le protoplasme; mais il est à la fois le foyer commun de l'un et de l'autre.

Les mêmes phénomènes se répètent aux segmentations suivantes,
FIG. 38.

On objectera peut être que le corpuscule peut envoyer des filaments à l'intérieur du noyau par l'ouverture qu'il a créée pour en sortir.

La réponse est facile.

D'abord remarquons que le corpuscule n'a pas de quoi livrer des filaments; il est sorti du noyau, il n'avait pas même de zone claire. Ensuite l'observation attentive montre qu'il n'envoie rien d'aucun côté. En effet les rayons astériens se forment sur place, à l'aide des trabécules préexistantes du cytoplasme. Or, ces rayons demeurent où ils naissent, car ils sont reliés par leurs extrémités aux trabécules non modifiées, à toutes les étapes de la cinèse; ils ne se détachent donc pas pour se porter dans le noyau. Cela est tellement vrai, que nous n'avons jamais vu, pas plus que KULTSCHITZKY, un rayon astérien attaché au fuseau, ni même aux bâtonnets saillants de la couronne; ils sont toujours latéraux et indépendants, comme le cytoplasme d'où ils proviennent.

C'est là un fait important, que nous avons tenu à constater avec autant de soin que KULTSCHITZKY. Car, il prouve que les filaments des asters — sphères attractives, archoplasmiques, etc., qui ne sont en réalité que des asters — ne peuvent, à la façon de fibrilles musculaires, attirer en se rétractant les bâtonnets de la couronne équatoriale vers les pôles, ainsi que le soutiennent VAN BENEDEN, BOVERI et tant d'autres. Et c'est avec infiniment de raison que l'auteur précité s'élève contre l'emploi du mot sphère attractive; il n'y a rien dans l'aster qui puisse remorquer les bâtonnets, faute de connexion avec les chromosomes.

Il faut dire la même chose de l'irradiation nucléaire. Il est aussi aisé, en effet, de surprendre la transformation graduelle des trabécules caryoplasmiques en filaments continus, surtout au premier moment où le corpuscule y fait sentir son action. Ces filaments se forment donc aussi sur place et ne sont amenés de nulle part. Nous avons vu cette transformation avec tant de netteté chez les deux variétés d'*Ascaris*, que le moindre doute pour nous n'est plus possible. L'un de nous a déjà, du reste, décrit plusieurs fois des phénomènes semblables, et il y a longtemps qu'il a appelé l'attention sur les cinèses intérieures, c'est-à-dire qui évoluent au sein d'un noyau dont la membrane reste intacte pendant toute la durée du phénomène.

Le fuseau est donc tout entier l'œuvre du noyau.

Ajoutons seulement une remarque.

Lorsque le corpuscule, à sa sortie, s'avance dans le cytoplasme à une certaine distance de la membrane nucléaire, ce qui est assez rare (du reste, il produit une irradiation dans la bande de cytoplasme interposé, ainsi qu'on peut le voir sur la FIG. 29, PL. I. Les quelques bouts de filaments qui en résultent viennent jusqu'à la membrane du noyau, et il est bien probable qu'après la résolution de celle-ci ils fassent corps commun avec le fuseau; car, cela se voit ailleurs, par exemple chez les *spirogyres*. Mais c'est là une ajoute accidentelle et insignifiante, qui ne peut en rien modifier notre thèse.

C'est pour avoir vu de semblables irradiations que les auteurs ont conclu à l'introduction des rayons cytoplasmiques dans le noyau pour y constituer le fuseau. Cette déduction n'est pas légitime. Car ces rayons ne peuvent aller plus loin que le cytoplasme lui-même, dans lequel et aux dépens duquel ils se forment; ils se terminent donc nécessairement à la membrane nucléaire.

BOVERI représente sur plusieurs de ses figures, 38 à 42, 55 et 56, des sphères situées à une grande distance des noyaux; le cytoplasme fournirait alors une partie notable, sinon la totalité du fuseau. Ces figures ne sont pas naturelles; c'est son réactif picro-acétique qui a produit cet écartement en modifiant profondément l'ordonnance du cytoplasme (1). Sur des préparations mieux conservées, de pareilles figures sont extraordinairement rares, FIG. 39, PL. I.

A l'étape qui suit celle des FIG. 28 et 29, la membrane nucléaire se résout sur place, sans que le noyau subisse la moindre rétraction ou diminution de volume.

(1) Voir plus haut, p. 81 et 82.

Pour BOVERI (1), les choses ne se passent pas ainsi. Le protoplasme, dit-il, en substance, soutire la Kernsaft, alors que la membrane est encore intacte : de là, le ratatinement de plus en plus prononcé du noyau et son rapetissement, au point qu'il est réduit au volume des éléments chromatiques repoussés et pressés les uns sur les autres. Après la dissolution de la membrane, les bâtonnets gisent donc directement dans le cytoplasme.

S'il en était ainsi, le noyau ne pourrait évidemment fournir le fuseau. Mais, rien de semblable ne s'est montré à nos regards. Nous n'avons jamais rencontré de noyau ratatiné, ni rapetissé; le noyau reste aussi volumineux et aussi turgide au moment de la division qu'auparavant. En outre, après la dissolution de la membrane, les éléments chromatiques ne sont jamais plongés directement dans le cytoplasme; ils sont, comme antérieurement, situés au milieu du caryoplasme qui est déjà plus ou moins organisé en fuseau. Cette description de BOVERI suffirait à elle seule pour prouver qu'il s'est servi de réactifs désorganisant.

Il y a tout lieu de penser que la résolution de la membrane nucléaire se fait sous l'influence du corpuscule. En effet, elle débute sous ce dernier et s'étend progressivement à partir des deux pôles, et il n'est pas très rare de trouver encore des indices certains de la membrane à l'équateur de la figure, jusqu'au stade de la couronne équatoriale. La FIG. 30 en fournit un bel exemple.

4^o Constitution du fuseau.

Le fuseau ne tarde pas à se marquer davantage; les filaments se rectifient et se tendent, FIG. 30. Cette figure tient le milieu entre les FIG. 23 et 29 d'un côté, et la FIG. 24 qui représente le stade équatorial, de l'autre. Dans la FIG. 30, il y a encore des filaments ondulés, et la part qui revient dans le fuseau à chacun des noyaux de conjugaison est encore visible; le fuseau est dimidié. En se redressant et en s'allongeant, le fuseau devient généralement simple, comme celui de la FIG. 24; nous avons cependant vu des fuseaux bipartites jusqu'au stade de retour des bâtonnets vers les pôles.

Au stade de la couronne équatoriale, FIG. 24, PL. I, FIG. 7 et 28, PL. II, le fuseau est généralement assez large. Il est formé d'un grand nombre de filaments rapprochés, mais libres et assez également espacés. Nous ne les avons pas vus réunis en petits faisceaux distincts, comme le représentent

(1) BOVERI : l. c., p. 148, 149.

BOVERI, dans ses fig. 43, 44, 59, et KOSTANECKI, dans ses fig. 9 et 10; ce fait n'aurait, d'ailleurs, aucune importance à nos yeux.

Les filaments sont unis, c'est-à-dire non granuleux, sur tout leur parcours, et l'on ne voit pas, comme l'admet VAN BENEDEN, de distinction entre leur partie polaire et leur partie équatoriale. Si la partie polaire semble parfois plus dense et plus granuleuse, c'est uniquement parce qu'elle n'est pas mise au point exactement; les granules de l'auréole se projettent alors sur les filaments et semblent faire corps avec eux.

Il arrive parfois que les filaments, sans être moniliformes, sont irréguliers, formés de parties plus épaisses et plus délicies, alternativement : comme dans notre FIG. 28, PL. II. Ces figures font l'effet d'un cordon plastique qui serait étiré et dont la masse s'étendrait irrégulièrement. Cet aspect est peut-être dû, en effet, à l'allongement du fuseau; car, il est surtout marqué au stade des couronnes polaires, FIG. 32, PL. I.

Nous ne pouvons admettre avec BOVERI et VAN BENEDEN que les filaments du fuseau forment deux cônes distincts attachés aux faces opposées des bâtonnets nucléiniens. Pour nous, ils sont continus d'un pôle à l'autre, et les bâtonnets y sont simplement accolés. BOVERI reconnaît du reste (1) que lorsque le fuseau est formé, il est très difficile de constater que les filaments sont attachés aux bâtonnets et s'y terminent. Voici, d'ailleurs, nos raisons.

D'abord, quand on suit le mode de formation des filaments, FIG. 23, 29 et 38, PL. I, on peut constater déjà qu'ils vont d'un bout à l'autre du noyau encore intacte. Ensuite, au stade de la couronne, on peut en suivre beaucoup dans toute l'étendue du fuseau : FIG. 30 et 24, PL. I; FIG. 7 et 28, PL. II. Certes, on ne peut les suivre tous; cela est impossible, car ceux auxquels les bâtonnets sont accolés sont indistincts sur toute l'épaisseur de ceux-ci. Mais il est deux faits qui nous ont toujours frappés. Le premier, c'est que les filaments se correspondent toujours exactement de part et d'autre du bâtonnet, comme si un filament unique passait à travers ce dernier. Le second est aussi important. Lorsqu'on rencontre d'un côté du fuseau des filaments reconnaissables à un caractère particulier, plus volumineux ou plus granuleux, par exemple, on trouve de l'autre côté et correspondant exactement aux premiers des filaments ayant absolument les mêmes caractères. Si le fuseau était formé de deux cônes *distincts*, for-

(1) BOVERI : l. c., p. 94

més d'une manière indépendante à chaque pôle, ne serait-il pas bien étrange que ses deux moitiés fussent toujours constitués de la même manière, et cela jusque dans les moindre détails? Toutes les figures équatoriales des auteurs, celles de BOVERI en particulier — ses fig. 57, 58, 59, 65, 78 — prouvent aussi à l'évidence les deux faits que nous venons de signaler.

Tous les filaments du fuseau convergent en un point unique, et ce point touche au corpuscule; ils ne s'arrêtent donc point à l'auréole granuleuse. D'ailleurs, le corpuscule n'est jamais, sur nos préparations, entouré de cette zone hyaline qui a été tant de fois figurée à l'entour du centrosome, et que BOVERI marque à tort dans beaucoup de ses figures, ni de la zone médullaire de VAN BENEDEN; ces zones existent seulement lorsque le cytoplasme a subi une rétraction. De même que les rayons astériens aboutissent au corpuscule, de même les pointes du fuseau y touchent directement, FIG. 21, 30 et 31, PL. I, FIG. 7, 8, 23, 29, etc., PL. II. Les figures de KOSTANECKI et SIEDLECKI sont très exactes sous ce rapport.

§ V.

Couronnes polaires.

Après la division longitudinale équatoriale, les demi-bâtonnets se mettent en marche vers leur pôle respectif.

1° *Retour aux pôles.*

Ce retour est marqué d'abord sur deux figures de l'*Ascaris bivalens*, FIG. 31 et 32, PL. I. A partir de la dislocation de la couronne, le fuseau s'allonge considérablement. D'après nos préparations, il s'allonge plus que ne l'ont figuré les auteurs. Dans la FIG. 31, le fuseau a conservé l'aspect qu'il avait auparavant, il n'a fait que s'étendre. Ses filaments paraissent aussi nombreux et aussi réguliers. En outre, on remarquera aisément qu'ils sont continus d'un pôle à l'autre. Les figures où les bâtonnets sont aussi courts et trapus ne sont pas très communes. Habituellement, ils sont beaucoup plus allongés et forment des anses assez minces, comme dans la FIG. 32. Il n'entre pas dans nos intentions de donner plus de détails à ce sujet. Nous avons reproduit, FIG. 31, un exemple à bâtonnets trapus, parce que dans ces sortes de figures, le fuseau nous a paru beaucoup mieux conservé que dans les autres. On peut s'en convaincre en jetant les yeux sur la FIG. 32; ici, les filaments sont beaucoup moins nombreux, plus irréguliers et comme

étirés. On trouve des retours où ils sont moins nombreux encore et paraissent être en voie de désagrégation.

Nous avons figuré les mêmes stades chez la variété *univalens*, aux diverses segmentations, FIG. 8 à 12, 26, 28, 29 et 31. Cette variété a été de notre part l'objet d'une étude plus suivie, parce que, grâce au petit nombre de ses bâtonnets, on y saisit mieux les phénomènes intimes qui se passent dans les couronnes. HERLA a aussi étudié spécialement la segmentation dans cet *Ascaris*. Comparons nos observations avec celles de ce savant.

D'après HERLA, au début du retour, les anses jumelles se soulèvent par leur partie moyenne, et celle-ci arrive toujours la première au pôle. Il en est certainement ainsi dans le cas de sa figure doliforme, fig. 19, qui correspond à notre FIG. 8. Mais il n'en est pas de même dans ses autres figures, ses fig. 20-22. Nous avons reproduit dans nos FIG. 28 et 29 un cas qui se présente fréquemment. Souvent, en effet, les anses, au lieu de se disjoindre par leur milieu, se séparent très tôt à une de leurs extrémités seulement, et c'est le bout détaché qui arrive le premier au pôle. Nous allons voir ce qui survient ensuite.

Dans les retours comme ceux de la FIG. 8, la formation de la couronne polaire s'explique aisément; les anses n'ont qu'à se détacher à leurs extrémités et se rapprocher un peu des pôles pour lui donner naissance. Remarquons cependant un détail qui ne correspond pas à la description de HERLA. En se portant vers les pôles, les deux anses finissent par se croiser, ainsi qu'on l'a marqué dans la FIG. 9; elles ne sont pas simplement côte à côte. Ce phénomène nous semble général.

Il en est de même lorsque les retours se font comme dans nos FIG. 28 et 29. Voici comment les choses se passent. On voit sur ces deux figures : 28 en bas, 29 en haut, que les extrémités libres des anses, arrivées aux pôles, se recourbent en sens opposé, c'est-à-dire l'une à droite, l'autre à gauche, de façon à se croiser. Dans la FIG. 29, en bas, le phénomène est plus avancé, les bouts se recourbent davantage en chevauchant l'un sur l'autre. Entre-temps les extrémités équatoriales se sont libérées. Enfin, dans la FIG. 26, les couronnes sont achevées; elles sont identiques à celles de la FIG. 9; les deux anses y sont placées en croix.

Telles sont, à nos yeux, les couronnes polaires normales, et tel est leur mode de formation régulier.

2° *Corpuscules nouveaux.*

Les phénomènes qui se passent ensuite dans la couronne, avant la reformation des noyaux, sont dignes de fixer un instant notre attention; d'autant plus qu'ils n'ont pas été remarqués.

D'abord l'angle ou la courbure des anses tend à s'effacer et est remplacé par une portion rectiligne d'une certaine étendue; il en résulte deux angles au lieu d'un, FIG. 11, 12. Ce phénomène n'est donc pas primordial, comme semble l'admettre HERLA, p. 443; au début les anses n'ont qu'un angle, comme nous l'avons dit. Cet étirement de la portion anguleuse a pour effet d'écarter les deux branches, ainsi que l'indiquent nos figures. Bientôt cette portion s'atténue, en même temps qu'elle se teint moins fortement par les colorants nucléiniens : on dirait qu'une portion de la nucléine émigre dans les branches, ou s'altère. Mais, à l'aide de l'hématoxyline au fer, on y remarque aisément de un à trois ou même quatre granules minuscules, qui se colorent intensément en noir. Finalement, le pont disparaît et les granules sont mis en liberté. Ailleurs, les choses se passent un peu autrement. Le pont se maintient avec son épaisseur, et l'on voit apparaître à l'intérieur une ou plusieurs sphérules, parfois assez volumineuses, qui se colorent plus vivement que le restant de la masse où elles sont enrobées, FIG. 11. Enfin, il arrive que le pont est vide de granules colorables; on trouve alors ceux-ci blottis contre l'extrémité des demi-bâtonnets.

Telle est, croyons-nous, la genèse des nouveaux corpuscules polaires. Ces granules ont en effet tous les caractères de ces corps, et on les retrouve à côté des demi-bâtonnets dans toutes les étapes suivantes; seulement ils grossissent avec l'âge, FIG. 13 à 15. Habituellement, à partir du moment où les noyaux sont reconstitués, on en trouve deux seulement parfois trois dans chaque noyau; les trois ou quatre granules originels de chaque pont ont donc dû se fusionner, ainsi que cela a lieu dans les noyaux sexuels.

3° *Groupes binaires.*

Par le fait même que les ponts disparaissent et que les corpuscules sont mis en liberté, les deux anses primitives sont coupées chacune en deux moitiés. Désormais il y aura donc quatre bâtonnets au lieu de deux. Or, ces bâtonnets forment deux groupes binaires, FIG. 10 et 12, plus ou moins espacés. On voit sur la FIG. 12, l'aspect que prennent à ce moment les anses croisées de la couronne; les ponts sont aussi croisés. Et il est bien évident

sur cette figure que chaque groupe binaire est formé de deux bâtonnets appartenant chacun à une des deux anses primitives; il y a donc dans chaque groupe un bâtonnet paternel et un bâtonnet maternel. Ce nouveau fait pourrait aussi peut-être avoir son importance; nous y reviendrons plus loin.

HERLA a constaté l'existence accidentelle de ces groupes binaires, mais il en a méconnu l'origine et la nature. Pour lui, en effet, ils dérivent chacun de la division longitudinale d'une anse tout entière de la couronne. Division qu'il appelle *secondaire*, p. 416, pour la distinguer de la division principale qui a eu lieu dans la couronne équatoriale. S'il en était ainsi, les deux bâtonnets de chaque groupe seraient de même nature; ils seraient tous deux respectivement d'origine paternelle ou maternelle. Les faits que nous venons d'analyser sont contraires à cette manière de voir. D'abord, il n'y a pas de seconde division longitudinale dans la couronne polaire, les anses de celle-ci sont coupées en leur milieu par une sorte de scission transversale. Mais, la manière dont cette scission s'opère a pour résultat la création de deux groupes binaires à bâtonnets sensiblement égaux et souvent parallèles; ce qui peut donner l'illusion d'une division longitudinale. Ensuite, les deux bâtonnets de chaque groupe sont de provenance différente, l'un vient de l'anse paternelle, l'autre de l'anse maternelle. Les phénomènes sont donc tout autres que l'a pensé HERLA.

Une remarque encore. Les deux bâtonnets des groupes binaires sont loin d'être toujours parfaitement parallèles, FIG. 14. Cela se comprend, puisqu'ils ne résultent pas d'une division longitudinale; leur position définitive est, au contraire, le résultat d'un phénomène complexe.

Il arrive aussi que des deux bâtonnets destinés à un groupe ne parviennent pas à se réunir; on peut voir ce détail sur la FIG. 13, en bas: les deux éléments du groupe de gauche y sont très éloignés l'un de l'autre. Mais ces cas exceptionnels et plus ou moins aberrants ne sont pas de nature à masquer l'arrangement typique des bâtonnets en groupes binaires.

A la *seconde* segmentation, tous les mêmes phénomènes se présentent. Les anses de la couronne polaire de la FIG. 26 subissent le même étirement et la même scission à leur partie médiane. On y voit aussi les futurs corpuscules dans les ponts, et les deux groupements binaires, FIG. 27 et 30.

Chacun des bâtonnets de ces derniers provient aussi d'une anse différente; ces groupements sont donc aussi de nature mixte.

Jetons maintenant un coup d'œil sur les couronnes polaires de la variété *bivalens*, et voyons si l'on peut y constater les mêmes phénomènes.

Quoique ces couronnes ne possèdent que quatre anses, il est déjà difficile d'y voir clairement. Cependant, en les comparant avec les images correspondantes de l'*univalens*, on arrive à la conviction que tous les phénomènes se déroulent comme chez cette dernière variété.

Nous avons représenté dans les FIG. 31 et 32 deux couronnes que nous considérons comme deux types extrêmes. Entre la couronne à anses déliées et très allongées et l'autre à bâtonnets courts et trapus on trouve tous les intermédiaires. Dans la FIG. 31, les couronnes ne sont pas encore complètement achevées. Pendant leur retour aux pôles, les anses chevauchent l'une sur l'autre et finissent par se croiser dans la couronne, mais jamais d'une manière aussi régulière que chez l'*univalens*.

Ce qui est plus difficile à voir, c'est la naissance des granules, ou futurs corpuscules, dans les ponts qui ne tardent pas à apparaître aux courbures des anses. Ces ponts sont moins longs que chez l'*univalens*, mais il s'en forme un aussi dans chaque anse. En outre, on y voit des granules en nombre variable. Le fait est que l'on peut compter aisément deux ou trois corpuscules, parfois quatre lorsqu'ils ont été mis en liberté, FIG. 34. Ici, comme dans l'autre variété, les corpuscules se fusionnent, et cela très tôt. En effet, par la suite, on n'en trouve plus généralement que deux dans chaque noyau, voire même qu'un seul, FIG. 33, 35 et 36, Pl. I.

Après la scission transversale, il y a donc huit bâtonnets dans chaque couronne, et ils paraissent disposés par paire comme chez l'*univalens*. Mais cette disposition est loin d'être aussi frappante; assez souvent cependant on trouve des paires bien marquées, FIG. 33 et 34. Il serait à plus forte raison bien difficile de constater si, des deux bâtonnets l'un est paternel, et l'autre maternel. On peut admettre cependant qu'il en est ainsi, puisque tous les phénomènes s'y déroulent comme dans la première variété.

VAN BENEDEN⁽¹⁾ avait cru remarquer *parfois* une division longitudinale dans les anses de la couronne polaire du *bivalens*. Nous avons critiqué cette opinion depuis longtemps⁽²⁾ : il n'y a jamais, avons-nous dit, de division semblable dans la couronne polaire, quand il s'en est déjà fait une à l'équateur de la figure. Nous venons de voir d'ailleurs que la multiplication des bâtonnets est due à une scission transversale, qui est, non pas accidentelle, mais selon toute apparence normale et générale dans les deux variétés.

(1) VAN BENEDEN et NEYT : l. c., p. 258.

(2) J. B. CARNOY : *La cytodiérèse*, etc., p. 336.

4° *Mécanisme du retour polaire. - Disparition du fuseau.*

La discussion approfondie des théories émises sur le mécanisme du retour vers les pôles sortirait du cadre de ce travail, qui n'a en vue que l'*Ascaris*. D'autant plus que les causes intimes qui président à ce phénomène nous sont encore inconnues, malgré les nombreux travaux auxquels elles ont servi de thème. La question n'est pas mûre; on ne fait que deviner. Nous nous permettrons seulement quelques remarques suggérées par nos résultats.

Nos observations sur l'*Ascaris* nous autorisent d'abord à rejeter l'opinion de VAN BENEDEN, BOVERI, etc., qui admettent que le fuseau est formé de deux cônes de filaments remorqueurs, dérivant des asters ou de leur équivalent. Nous avons vu, en effet, qu'aucun des filaments astériens n'est attaché aux bâtonnets équatoriaux; ils ne peuvent donc remplir le rôle qu'on leur attribue.

Ensuite, et pour les mêmes raisons, nous devons combattre l'opinion de KOSTANECKI et SIEDLECKI, qui admettent, à côté du fuseau central de HERMANN, une zone périphérique de filaments rétracteurs: „*Mantelschicht*." Or, ceux-ci pas plus que ceux des cônes n'aboutissent aux bâtonnets, puisqu'ils sont aussi d'origine astérienne.

Du reste, tous ces observateurs se sont mépris sur l'origine et la constitution du fuseau: leurs cônes, leur couche palléale et leur fuseau central ne proviennent pas des sphères ou des asters, c'est-à-dire en réalité du cytoplasme, mais bien du noyau qui est le créateur du fuseau. C'est donc au noyau, et nullement au cytoplasme, qu'il faudrait attribuer la formation des couronnes polaires, si l'on voulait admettre l'existence de filaments remorqueurs.

On pourrait peut-être, en effet, se demander si le fuseau ne renferme pas de semblables filaments. Nous n'avons rien remarqué qui plaidât en faveur de cette hypothèse.

Sans doute, bien souvent, le faisceau de filaments qui relie les couronnes en voie de progression vers les pôles est moins fourni que le fuseau primitif au stade équatorial, FIG. 10, 29, PL. II, FIG. 32, PL. I, et alors on pourrait penser que certains filaments se sont rétractés avec les bâtonnets. Mais parfois aussi, on n'y voit guère de différence, FIG. 31, PL. I, FIG. 31, PL. II.

Nous avons représenté, dans les FIG. 31 et 32, PL. II de l'*univalens*, la couronne équatoriale et le retour vers les pôles de ces segmentations

particulières, découvertes par BOVERI, et dans lesquelles les portions terminales des anses sont rejetées dans le cytoplasme. Dans toutes les figures de ce genre on chercherait en vain la moindre différence entre le fuseau proprement dit, ou fuseau du stade équatoriale, FIG. 32, et le fuseau connectif interposé aux couronnes polaires, FIG. 31; les filaments sont aussi nombreux d'un côté que de l'autre.

Or, s'il y avait des filaments chargés de retirer les demi-bâtonnets vers les pôles, il n'en serait pas ainsi. En effet, il n'en resterait plus alors entre les couronnes polaires, c'est-à-dire qu'il n'y aurait pas de fuseau connectif, attendu qu'il n'y a pas de filaments sans bâtonnets dans la couronne équatoriale, qui est une couronne pleine.

A moins de soutenir que le fuseau réunissant ne soit formé, suivant l'opinion de VAN BENEDEN et BOVERI, par les parties étirées des demi-bâtonnets qui se séparent. Mais on n'y peut songer. Il suffit de jeter les yeux sur nos deux figures pour voir que c'est le même fuseau des deux côtés. Ensuite, les filaments qui sont entre les couronnes et ceux qui sont au-delà et aboutissent aux pôles dans la FIG. 31, sont identiques d'aspect et d'épaisseur, ils sont identiques aussi à ceux de la FIG. 32. Comment concevoir que des parties étirées de force puissent produire un fuseau réunissant aussi régulier, à filaments tous les mêmes, sans qu'aucun ne se brise et, en outre, absolument semblables à ceux du premier fuseau? Comment concevoir, au surplus, que les parties étirées de bâtonnets, ou plutôt de granules aussi tenus que ceux des couronnes polaires de la FIG. 31, puissent fournir le fuseau intermédiaire, alors que celui-ci représente une masse plus volumineuse que les granules eux-mêmes, et que, d'ailleurs, ces derniers ne diminuent nullement de volume durant leur trajet jusqu'aux pôles? Cela est impossible.

Ces figures nous paraissent prouver à suffisance que les demi-bâtonnets cheminent simplement sur les filaments de l'ancien fuseau, et que, par conséquent, les filaments réunissants ne sont que les filaments de ce dernier, visibles à l'équateur après le départ de l'élément nucléinien. Nous ne pouvons donc admettre l'existence des filaments remorqueurs dans le fuseau de ces figures.

Et combien nombreuses sont les figures semblables qui se rencontrent chez les animaux et les végétaux! Telles, toutes celles qui ont été désignées dans la *Cytodièrese* sous le nom de couronnes pleines à bâtonnets droits, courts et tenus. Pourquoi en serait-il autrement dans les figures où les élé-

ments nucléiniens sont volumineux et forment des anses accentuées, comme dans les deux premières segmentations de l'*Ascaris*, par exemple? On ne le voit pas trop.

Nous avons dit, il est vrai que, assez souvent, le fuseau connectif diffère notablement du faisceau primitif : il est moins fourni; ses filaments sont plus irréguliers et comme en voie de désagrégation. Il ne semble pas irrationnel d'admettre que des bâtonnets volumineux et très allongés en se retirant vers les pôles dérangent et brisent des filaments aussi délicats que ceux du fuseau. Lorsqu'ils sont courts et trapus, les filaments connectifs sont en général plus nombreux et mieux conservés : témoins notre FIG. 31, PL. I, dans laquelle le fuseau est aussi fourni que celui d'une couronne équatoriale, FIG. 24. Nous avons appelé l'attention sur cette particularité dans notre description.

Une autre raison à alléguer, et qui est peut-être la principale, c'est la précocité de la disparition du fuseau dans les premières segmentations, et la rapidité avec laquelle elle s'effectue. Le fuseau s'efface, en général, avant les asters et même avant le centrosome. On peut s'en convaincre en examinant les FIG. 9 à 14, PL. II. Une seule, la FIG. 10 a conservé encore son fuseau; sur toutes les autres il a disparu. Parfois les couronnes polaires sont à peine formées, qu'il est remplacé par un réseau ordinaire, FIG. 9, 11, 12.

Cette transformation se marque d'abord à la partie équatoriale interposée aux couronnes polaires. Le plus souvent, au stade des FIG. 9 et 11, elle est envahie par une quantité de granules, au milieu desquels on aperçoit des tronçons de filaments, ou des trabécules dirigées dans divers sens. Celles-ci s'accroissent de plus en plus et la masse tout entière est transformée en réseau, identique à celui du cytoplasme extérieur, FIG. 9 et 12.

Les phénomènes s'exécutent semblablement à la seconde cinèse, FIG. 27 et 30.

On voit sur toutes ces figures la manière dont progresse la formation du réseau de la partie médiane du fuseau connectif vers les couronnes, qui sont envahies peu à peu, FIG. 9, 11 et 12. C'est alors, habituellement, qu'apparaît la membrane du nouveau noyau, FIG. 13, 14. La portion du fuseau qui est laissée en dehors du noyau, du côté du centrosome, se transforme à son tour avec l'aster qui l'entoure, FIG. 27 et 30. Lorsque l'aster disparaît tôt, comme dans les FIG. 12, la portion polaire du fuseau est déjà remplacée par le réseau avant l'apparition de la membrane nucléaire.

De cette description, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

Le fuseau commence déjà à se modifier et à s'effacer pendant le retour vers les pôles.

Il n'est donc pas étonnant qu'il soit généralement peu fourni au stade des couronnes polaires, ni que ses filaments soient moins fermes, plus ondulés et granuleux que ceux du fuseau au stade équatorial.

Le fuseau cinétique disparaît totalement comme tel, sans laisser de résidu figuré, analogue à ceux qu'on remarque dans diverses cellules, dans les spermatocytes en particulier.

Il est remplacé par un réseau identique à celui du cytoplasme environnant.

§ VI.

Reconstitution des noyaux.

1° Réformation des noyaux.

- Il est certain, dit E. VAN BENEDEN(1), à propos du *bivalens*, que le noyau se reconstitue exclusivement aux dépens des éléments chromatiques du dyaster, qui s'imbibent à la façon d'une éponge; aucune portion du corps protoplasmatique de la cellule n'intervient directement dans la réédification du noyau. -

HERLA(2) est du même avis concernant l'*univalens*.

BOVERI tient le même langage(3) : - en dehors des éléments chromatiques aucun élément figuré de la cellule n'est enrobé dans le noyau. -

Nous regrettons d'être, ici encore, en contraction avec nos devanciers.

Les noyaux se reconstituent de la façon qui a été décrite tant de fois dans la *Cytodiérèse* des arthropodes et des nématodes : *Une portion notable de protoplasme est enrobée dans le jeune noyau par la nouvelle membrane nucléaire.*

1° Ce fait fondamental est surtout frappant chez l'*Ascaris univalens*, à cause du petit nombre de ses bâtonnets et de leur écartement qui est notable. Pour ce double motif, il est aisé de voir la large plage de caryoplasme au sein du nouveau noyau, au moment où sa membrane s'élabore, FIG. 13 et 14. Ces figures sont absolument démonstratives. La membrane vient de s'élaborer; elle est encore granuleuse comme une plaque cellulaire récente.

(1) VAN BENEDEN et NEYT 1 c., p. 259.

(2) HERLA 1. c., 445.

(3) BOVERI 1. c., p. 138.

On voit qu'elle s'établit dans le protoplasme en dehors des bâtonnets nucléiens, et qu'elle est tout à fait indépendante de ces derniers. Seulement elle contourne les groupements binaires, de façon que le nouveau noyau est bilobulé dès son origine. Nous disons bilobulé : car, typiquement, ces lobules sont au nombre de deux chez l'*univalens*; ils correspondent aux bouts des deux groupements binaires, qui sont tournés vers l'équateur; du côté du pôle ou de l'aster, la membrane s'établit circulairement et d'une manière régulière. Les fig. 15 et 16, en haut, sont typiques pour cet objet. Il y a sans doute des irrégularités qui se produisent. Ainsi, dans la fig. 13, il n'y qu'une corne au noyau supérieur, tandis qu'il y en a deux dans celui d'en bas, mais qui sont obliques. Rarement, on en voit trois ou quatre; parfois aussi les noyaux en sont dépourvus. A partir de la seconde ou de la troisième cinèse, les lobes deviennent plus rares, ou sont beaucoup moins marqués. Le nombre de protubérances dépend uniquement de la disposition des bâtonnets à cette période, position qui n'est pas toujours typique. Ainsi dans la fig. 13, en bas, il y a un bâtonnet aberrant au sommet du noyau, et qui a donné naissance à une corne, tandis que le groupe binaire de droite, un peu rentré en dedans, n'y a pas donné lieu. Mais ce sont là des exceptions, peu nombreuses d'ailleurs.

Cette description diffère totalement de celle de HERLA. Pour cet auteur le noyau qui se reconstitue porte *normalement* quatre cornes correspondant aux quatre bouts des deux anses de la couronne. Il n'en est rien. Ce chiffre est tout à fait exceptionnel et anormal. HERLA semble d'ailleurs en être convaincu, car, un peu plus loin, il dit expressément : - Le *plus souvent* les noyaux au repos, au lieu d'être pourvus de quatre digitations correspondant aux quatre bouts des anses ne possèdent que deux prolongements. - C'est donc plutôt ce chiffre qui devrait être considéré comme normal. S'il existait un prolongement correspondant à chaque bout, il devrait y en avoir non pas quatre, mais huit, puisqu'il y a toujours en réalité (1) quatre bâtonnets avant la reconstitution du noyau. Le fait est que les cornes ne correspondent pas à un bout d'anse et ne représentent pas un chromosome. Elles correspondent normalement à un groupe binaire de bâtonnets, et renferment deux chromosomes distincts provenant de deux anses primitives différentes. C'est tout autre chose.

Pour expliquer la réduction des digitations de quatre à deux, HERLA admet que deux des quatre extrémités des anses rentreraient dans la portion

(1) HERLA n'admet que deux anses parce qu'il n'a pas observé leur scission transversale dans la couronne polaire.

centrale du noyau. Cette supposition est contraire à l'observation, car les bâtonnets restent en place dans les cornes; le restant du noyau en est dépourvu. HERLA fait remarquer lui-même, p. 445, que les digitations paraissent plus riches en chromatine que la partie centrale et que, dans celle-ci, il lui a toujours été impossible de retrouver la limite entre les chromosomes. Mais il attribue ce fait au gonflement qui est plus marqué dans la partie médiane des chromosomes et qui a pour effet de la transformer plus vite en réseau chromatique central. Tout cela doit s'expliquer autrement. Car l'élément nucléinien est localisé dans les cornes. Celles-ci, non seulement sont plus riches en nucléine, mais sont seules à en posséder. Si on ne peut distinguer la limite des chromosomes dans la partie centrale, ce n'est pas pour la raison qu'il allègue, mais bien parce que les chromosomes n'y existent pas; le prétendu réticulum chromatique central, dont parle HERLA, n'est en effet autre chose que notre caryoplasme réticulé. Dans les deux cornes de sa fig. 28, l'auteur représente deux bâtonnets, qu'il considère comme la portion terminale des anses, lesquelles ne gagneraient pas aussi rapidement que la portion centrale l'aspect réticulé du noyau au repos. Ces prétendues portions terminales constituent en réalité l'élément nucléinien tout entier; le restant c'est la partie caryoplasmatique.

2° On constate des phénomènes semblables chez le *bivalens*. La membrane nucléaire s'y forme de la même manière et le jeune noyau, dès son début, possède un caryoplasme bien marqué, FIG. 33.

On y voit aussi un certain nombre de protubérances, mais ce nombre est très variable. Si les groupes binaires de bâtonnets pouvaient se former aussi régulièrement que dans l'*univalens*, le nombre typique des cornes serait de quatre. Mais nous avons vu que déjà, dans cette dernière variété, les bâtonnets, quoique de moitié moins nombreux, étaient sujets à des dérangements. Il n'est donc pas étonnant que le nombre de digitations soit plus changeant encore dans le *bivalens*. On en compte souvent 4 ou 3; parfois deux seulement, mais aussi 5 ou 6. Ce nombre dépend de la position et de l'état des groupes de bâtonnets au moment où la membrane s'élabore.

2° Noyaux aux repos.

Étudions maintenant les changements qui surviennent dans l'élément nucléinien du jeune noyau jusqu'au moment où il entrera en cinèse.

Ces changements ont été décrits différemment par VAN BENEDEN et HERLA et par BOVERI.

D'après les deux premiers de ces observateurs, les anses des couronnes polaires, au nombre de 4 ou de 2, suivant la variété, se gonflent en gros boyaux dans lesquels la chromatine se distribue en fin réticulum granuleux; puis les 4 boyaux volumineux se touchent et s'accolent pour former le noyau au repos.

BOVERI envisage les choses autrement. Les éléments chromatiques des couronnes envoient latéralement des prolongements déliés qui se réunissent en s'anastomosant pour former le réticulum chromatique, ou „ *Gerust* „, du noyau quiescent. Dès que les éléments chromatiques commencent à se transformer, ils soutirent du liquide au cytoplasme et l'accablent autour d'eux; de là, la „ *Kernsaft* „ qui remplit tout le noyau.

Nos prédécesseurs versent dans une erreur commune : la négation implicite ou explicite d'un caryoplasme organisé, en dehors de l'élément nucléinien; le réseau plastinien n'existant pas pour eux, ils ont fait de tout ce qu'ils voyaient à l'intérieur du noyau un réseau chromatique. Ainsi, les prétendus prolongements que BOVERI dit émaner des bâtonnets nucléiniens pour former le réticulum chromatique, ou *Gerust*, ne sont nullement une dépendance de ces bâtonnets; ce sont simplement les trabécules de notre réseau caryoplasmique, au milieu desquelles ils sont plongés. Nous avons vu plus haut, qu'HERLA avait fait la même confusion. VAN BENEDEN l'a faite également; le réseau chromatique qui dériverait de la masse centrale des couronnes, n'est rien de plus que notre réseau plastinien.

En outre, ils ont fait usage de réactifs qui détériorent les bâtonnets en les gonflant et en les désagréant. On peut s'assurer par l'inspection de toutes nos figures, qui sont au stade qui nous occupe, que les bâtonnets restent absolument tels qu'ils étaient dans la couronne débutante. Jamais nous ne les avons vu se gonfler, se vacuoliser, ni se transformer en ces masses spongieuses dont parlent VAN BENEDEN et HERLA, et que plusieurs auteurs ont décrites aussi chez d'autres animaux. Ces masses vacuolisées sont certainement dues à l'action des réactifs employés, ainsi que l'a soupçonné FLEMMING. Lorsque les bâtonnets sont bien fixés par des réactifs qui ne mettent pas en jeu le pouvoir osmotique des composés nucléiniens, on ne trouve rien de semblable. Chez l'*univalens*, par exemple, nous n'avons pas rencontré une seule fois les figures 27, 29 et 30 de HERLA, sa figure 28 est seule fidèle en ce qui concerne l'élément nucléinien. On conçoit, au surplus, que lorsque cette vacuolisation et le gonflement qui en résulte se produisent, le caryoplasme soit envahi et devienne indistinct.

Enfin, le lecteur sait que la partie centrale des anses de la couronne et, par conséquent, de la couronne elle-même n'existe plus; les anses se sont coupées et séparées en leur milieu; le centre est donc libre d'élément nucléinien, FIG. 10 et 12, PL. II. La partie centrale des couronnes n'a donc pu se transformer en réseau chromatique, comme le soutiennent VAN BENEDEN et HERLA.

Les choses se passent beaucoup plus simplement et, surtout, plus cytologiquement.

Nous avons établi que chaque protubérance du noyau, après l'élaboration de la membrane, renfermait deux bâtonnets plus ou moins parallèles, FIG. 15, PL. II; tout le reste du noyau étant occupé par le caryoplasme réticulé.

Les modifications du noyau pendant son repos consistent seulement dans quelques changements de forme de l'élément nucléinien. D'abord, les bâtonnets des cornes s'allongent et pénètrent plus avant dans le caryoplasme, FIG. 16, PL. II, FIG. 33 et 34, PL. I. Ce faisant, ils s'atténuent et prennent souvent un aspect granuleux; en même temps qu'ils décrivent des sinuosités, souvent très nombreuses, et se croisent ça et là. Ils finissent ainsi par envahir une portion plus ou moins notable du caryoplasme, voir même sa totalité 16, 18, 21, PL. II, FIG. 34 à 36, PL. I. Pendant ce développement, les extrémités extérieures des bâtonnets restent engagées le plus souvent dans les cornes, comme elles l'étaient primitivement. Ce fait est surtout patent chez l'*univalens*, FIG. 16 à 19, etc. mais on peut le constater aussi sur l'autre variété, FIG. 34, 36.

Chez le *bivalens* tout le caryoplasme est bientôt parcouru par des filaments granuleux et ténus, qui se croisent en tous sens, mais sans s'anastomoser ni former de réseau, FIG. 35; ils conservent toujours leur indépendance. On voit aussi dans l'*univalens* des noyaux encore jeunes qui sont parcourus en tous sens par des filaments sinueux. Cependant, assez souvent, ces filaments se localisent à la base des cornes, en laissant libre une portion plus ou moins étendue du caryoplasme; en effet, à tous les stades de développement jusqu'au moment de la cinèse, on trouve les images des FIG. 16 et 18 : cellules d'en haut, et FIG. 17. Il est bien plus facile encore de constater dans cette variété que les filaments restent indépendants et ne forment jamais de réseau, comme l'ont prétendu les auteurs précités.

Les bâtonnets primitifs peuvent cependant contracter des rapports entre eux : à une époque que l'on ne peut fixer, ils arrivent à se souder bout-à-bout.

Notons d'abord qu'il y a toujours au moins une soudure qui se fait. Car, au moment de la cinèse qui viendra, au lieu de 4 ou de 8 bâtonnets, il n'y en aura plus que 2 ou 4, suivant que l'on considère l'*univalens* ou le *bivalens*.

Mais il s'en fait parfois plusieurs. En effet, nous avons constaté à diverses reprises, et cela dans les deux variétés, l'existence d'un boyau unique à l'intérieur du noyau : FIG. 21, 22 en haut, PL. II ; FIG. 37, PL. I. Dans l'*univalens*, la continuité du filament n'est pas très difficile à suivre; ainsi, sur les FIG. 21 et 22 il était aisé de s'assurer qu'il n'y avait que deux bouts libres. HERLA et VAN BENEDEN n'ont pu constater ce fait; BOVERI le nie, bien à tort, en soutenant que les anses primitives des couronnes polaires restent indépendantes dans le noyau au repos.

Chez le *bivalens*, au lieu d'un cordon on en trouve parfois deux, FIG. 38, à gauche (1). VAN BENEDEN voit dans l'existence de ces deux cordons un fait général (2), et il croit que ces cordons existent déjà comme tels dans le noyau au repos depuis sa reformation; nous savons par ce qui précède que cette double assertion est erronée.

Il serait intéressant de savoir comment, c'est-à-dire entre quels éléments ces attaches s'établissent.

Les faits que l'on peut observer chez l'*univalens* sont peut-être de nature à nous éclairer sur ce point. Il y a dans cette variété deux paires de bâtonnets libres, une paire dans chaque corne, et, pendant qu'ils s'allongent et se répandent dans le caryoplasme, leurs extrémités restent constamment engagées dans la protubérance jusqu'à la cinèse. C'est là un fait frappant, qui se manifeste sur tous les noyaux typiques, c'est-à-dire qui ont deux lobes bien marqués. Or, au moment où la cinèse se déclare, chaque corne renferme une des deux anses de division, FIG. 17, 18, 19 en haut, 22, 24, 25. Il faut conclure de là que les deux bâtonnets primitivement libres de la corne se sont soudés ensemble; ce qui revient à dire que l'anse de la nouvelle division renferme une moitié paternelle et une moitié maternelle.

Cette union se fait le plus souvent par les bouts qui se sont allongés et répandus dans le caryoplasme; en effet, les bouts libres de l'anse sont au sommet de la corne, FIG. 18 et 19, en haut, FIG. 24 et 25, en bas.

(1) Les deux bouts équivoques qui se trouvent à gauche n'étaient ni dans le dessin, ni dans la gravure, le pont très pâle qui les reliait n'a pas pris à l'impression; on ne doit tenir compte que des deux bouts du haut et des deux bouts du bas de la figure

(2) VAN BENEDEN et NEY : l. c., p. 260.

D'autres fois, cependant, ce sont ces derniers qui se sont soudés, et les bouts internes qui sont restés libres, FIG. 17, 18 en bas, 22. Nous croyons que le premier cas est plus fréquent, plus normal; car, par ce procédé, les anses, lors de la formation du fuseau, sont dans la position qu'elles doivent occuper dans la couronne équatoriale, c'est-à-dire qu'elles ont la courbure en dedans et les bouts libres en dehors.

Lorsque les quatres bâtonnets des cornes se sont fusionnés en un boyau unique, comme dans les FIG. 21, 22 en haut, on peut admettre que les deux anses, qui s'en détacheront bientôt, auront la même constitution; la scission du peloton se faisant de façon à ce que la portion engagée dans chaque corne constitue une anse: comme cela aurait eu lieu, par exemple, dans les cellules inférieures des FIG. 18 et 22, si elles avaient renfermé un boyau unique. Rien ne s'oppose donc à ce que l'on considère, ici également, les anses de division comme représentant les deux bâtonnets primitifs d'une corne; elles seraient donc aussi d'origine paternelle et maternelle à la fois.

Il est beaucoup plus difficile de s'orienter chez le *bivalens*. Cependant, lorsque les cornes sont bien évidentes, on peut constater, au moment de la cinèse, qu'il y a assez souvent deux bouts libres au sommet de la corne et que ces bouts appartiennent à une anse de division, FIG. 39 a; les deux bâtonnets primitifs des cornes, FIG. 33 et 34, se seraient donc unis simplement, comme dans l'*univalens*, par leurs bouts internes. Des images comme celle de la FIG. 38, à droite, où les 4 anses de division se sont dessinées également, il est impossible de rien conclure; ce n'est que par analogie avec d'autres figures, et surtout avec celles de l'*univalens*, qu'on peut admettre que les anses de division sont, ici aussi, de nature mixte.

Ainsi, en résumé, chaque paire de bâtonnets issus de la cinèse précédente donne naissance à une anse nouvelle, formée de deux moitiés qui ont appartenu à des anses différentes dans la cinèse antérieure. A la première segmentation, une des anses était tout entière paternelle et l'autre maternelle. A la seconde segmentation les anses sont, au contraire, de nature mixte, c'est-à-dire formées d'une moitié paternelle et d'une moitié maternelle.

A la fin de la seconde segmentation, il se forme encore deux paires de bâtonnets, FIG. 27 et 30, PL. II. Ceux-ci sont-ils encore, l'un paternel et l'autre maternel dans chaque paire? Les deux anses qui ont participé à la seconde division étaient mixtes. Il se pourrait qu'après s'être croisées dans la couronne polaire, FIG. 26, leurs portions maternelles et paternelles

vinssent à se trouver ensemble, respectivement, pour donner naissance à deux groupes de même nature. Et, dans ce cas, les anses qui prendraient part à la division suivante seraient tout entières, l'une paternelle et l'autre maternelle. Mais alors, on le voit, nous retombons dans les conditions de la première segmentation et, à la cinèse qui suivra, les groupes binaires redeviendront nécessairement mixtes. De toute manière, nous sommes donc obligés d'admettre que l'élément nucléinien, devenu mixte à la première segmentation, continue de l'être, à parler d'une manière générale, et fonctionne comme tel dans les segmentations suivantes.

Après cet exposé, nous pouvons nous dispenser d'insister sur l'opinion de BOVERI et d'autres auteurs qui admettent l'indépendance permanente ou l'autonomie des chromosomes. Ce sont, dit BOVERI (1), en parlant du *bivalens*, les mêmes chromosomes que ceux de la couronne polaire précédente qui prennent part à la seconde segmentation; il y en a deux paternels et deux maternels encore. Ces éléments conservent donc leur individualité à travers les divisions.

On vient de dire que les chromosomes se sont scindés en deux à la première segmentation. Les 8 bâtonnets qui en résultent se réunissent deux à deux pour former les 4 anses mixtes de la division suivante. En supposant que ce phénomène ne se fasse pas aussi régulièrement que chez l'*univalens*, parce que les bâtonnets se mélangeraient plus facilement, il faudrait encore admettre qu'ils donnent naissance à des anses de diverse nature en se réunissant pêle-mêle bout-à-bout. Nous avons dit aussi que les quatre anses des couronnes polaires pouvaient se souder pour former deux cordons, voire même un seul peloton avant la cinèse suivante.

Un mot, pour finir, sur la FIG. 39, *b*. Cette image est fréquente au début de la troisième segmentation, lorsque la membrane nucléaire a disparu. Aussi, a-t-elle été signalée par BOVERI et VAN BENEDEN, avec certaines variantes. Cette figure s'explique aisément en la rapprochant de la FIG. 39, *a*, que nous connaissons. Il suffit que les deux anses qui ont leurs extrémités engagées dans les cornes s'ouvrent, et que les deux anses du milieu se rectifient un peu pour obtenir la FIG. 39, *b*. Ces images se rencontrent assez souvent, mais on en trouve beaucoup d'autres également; le noyau de la FIG. 38, à droite, aurait donné une autre image. La position relative des anses dans la figure, au stade qui précède la couronne équatoriale, dépend de leur ordonnance à l'intérieur du noyau.

(1) BOVERI : L. c., p. 154.

CHAPITRE V.

Nucléoles et corpuscules.

1^o *Propriétés des nucléoles et des corpuscules.*

Les nucléoles et les corpuscules ont beaucoup de propriétés communes.

Leur constitution chimique paraît assez semblable. Jusqu'ici on n'avait pas constaté la présence de nucléo-albumines dans les nucléoles plasmatiques; mais leur manière de se comporter vis-à-vis de l'hématoxyline ferrique nous a permis d'affirmer qu'ils contiennent une de ces substances; ils se colorent, en effet, en noir par ce réactif. C'est ainsi, du moins que se sont comportés tous les nucléoles que nous avons étudiés récemment chez les liliacées, les narcissées, les orchidées, etc., ainsi que chez divers animaux. Ils se conduisent donc comme les corpuscules. La fuchsine acide, la safranine, l'orange, etc., sont absorbés par ces deux sortes de corps, plus ou moins fortement; l'hématoxyline ordinaire ne l'est presque pas; le vert de méthyle moins encore. Sous l'influence des doubles ou triples colorants employés habituellement, ils se colorent aussi semblablement et d'une autre teinte que l'élément nucléinien.

On sait que la constitution organique apparente des nucléoles, quoique assez uniforme, n'est cependant pas la même partout. Ici, ce sont des sphérules homogènes ou légèrement granuleuses; là, ce sont des corps hétérogènes, c'est-à-dire formés de plusieurs parties distinctes. On y distingue une portion périphérique, ou enveloppe, et un globule central, connu depuis longtemps sous le nom de nucléolule; parfois, celui-ci renferme encore une petite sphérule à son intérieur. Généralement, le nucléolule se colore plus facilement et plus intensément que le reste du nucléole. Les quelques recherches que nous avons faites sur ces nucléoles composés, chez les *Allium* et quelques orchidées, nous ont montré que l'hématoxyline ferrique teignait plus fortement le nucléolule, et que celui-ci résistait beaucoup plus longtemps à la décoloration.

Les corpuscules se présentent aussi sous deux aspects. Le plus souvent ils paraissent homogènes, mais parfois on y trouve un nodule central, manière de nucléolule, qui se colore aussi plus facilement. On a signalé également dans ces corps une ou plusieurs sphérules claires, sortes de vacuoles. On en trouve de semblables au sein des nucléoles. Ces vacuoles sont le plus souvent artificielles, mais elles se voient aussi, çà et là, sur des

nucléoles vivants; ce sont des enclaves accidentelles qui ne font pas partie de la constitution organique de ces corps (1).

Nous venons de dire que le nucléolule se colorait plus fortement que son enveloppe, sans doute parce qu'il est plus riche en nucléo albumine. C'est à cause de cette affinité plus grande pour les colorants, que LAYDOWSKI considère le nucléolule comme étant le vrai centrosome, la seule partie active dans la division, la partie périphérique s'émiettant pour être résorbée.

Les observations de ce savant demandent à être confirmées et étendues à d'autres objets, avant qu'on puisse en tirer une conclusion certaine. D'autant plus que, d'après les auteurs, les centrosomes constitués d'une partie périphérique et d'un nodule central, celui que BRAUER dessine dans les spermatocytes de l'*Ascaris*, par exemple, participeraient tout entiers à la division, tout aussi bien que les corpuscules homogènes qu'on rencontre ailleurs.

2° *Entrée en activité du nucléole.*

Chez l'*Ascaris*, le nucléole se met en mouvement en vue de la division, de bonne heure, avant la résolution de la membrane nucléaire (2).

BRAUER, sur les spermatocytes de l'*Ascaris*, et LAYDOWSKI, sur des cellules végétales, ont constaté également la sortie du corpuscule, alors que la membrane nucléaire était encore intacte. KARSTEN a vu, chez le *Psilotum*, le nucléole se mettre en mouvement pour venir se blottir contre la membrane et s'échapper dans le cytoplasme, au moment où cette membrane se résorbe. Dans son étude sur la division des ovogonies de l'*Ascaris*, von WASILEWSKY affirme qu'on ne peut plus trouver de nucléoles dans le noyau lorsque la membrane de ce dernier commence à s'effacer. Beaucoup de botanistes ont décrit la disparition du nucléole ou sa fragmentation dans les noyaux encore intacts, dès le début du stade peloton. STRASBURGER vient d'insister spécialement sur la précocité de cette disparition. Nous pouvons ajouter que, d'après nos préparations récentes faites à l'aide de l'hématoxyline au fer, le nucléole entre en mouvement et se dissout entièrement, avant que la membrane nucléaire disparaisse, sur plusieurs endospermes végétaux.

On a fait des constatations semblables sur les animaux et, bien que

(1) Voir plus haut, p. 110, ce qui a été dit de l'opinion de v. ELLANGER et de BUTSCHLI sur la prétendue structure alvéolaire de ces corps.

(2) L'opinion contraire de BOVERI repose sur des observations fautives, voir plus haut, p. 105.

plusieurs observateurs aient négligé de préciser le moment de la disparition du nucléole, beaucoup d'entre eux l'ont placé au stade peloton.

Ces faits suffisent pour affirmer que ce corps est un des premiers à entrer en activité lors de la cinèse. Nous avons tenu à constater ce fait, qui est important, pour justifier le rôle que nous avons attribué au nucléole chez l'*Ascaris* : il est, avons-nous dit, le *primum moriens* de la division.

3° Manière d'être du nucléole pendant la cinèse.

Les observations des auteurs sur ce point sont extrêmement discordantes. Nous ne pouvons discuter ici toutes les opinions; contentons-nous de rappeler quelques faits qui nous intéressent davantage et qui sont suffisamment établis.

Les nucléoles émigrent ou n'émigrent pas, ils se fragmentent ou ne se fragmentent pas, ils se dissolvent à des moments très différents et à des endroits différents.

a) O. HERTWIG, nous le savons, a admis la fragmentation du nucléole dans les spermatocytes de l'*Ascaris*; mais, pour nous, cette fragmentation est fort douteuse⁽¹⁾. Néanmoins, ce phénomène existe. Plusieurs botanistes l'ont constaté d'une manière certaine soit à l'intérieur du noyau, soit dans le cytoplasme après la résolution de la membrane nucléaire. A la suite des nouvelles recherches qu'il a faites récemment à ce sujet, STRASBURGER⁽²⁾ est très affirmatif en ce qui concerne les *Galanthus* et les *Leucoium*. Les observations de ZIMMERMANN sur divers objets sont également démonstratives. Ce fait ne peut être révoqué en doute.

b) Il est bien certain aussi que les nucléoles n'émigrent pas toujours du noyau. Ils peuvent se dissoudre intégralement sur place soit directement, soit après s'être désagrégés en fragments, et cela avant même que la membrane nucléaire ne disparaisse. Cette dissolution précoce des nucléoles vient d'être constatée à nouveau, à la suite de recherches faites *ex professo* à ce sujet, par STRASBURGER sur les cellules-mères des grains de pollen des *Lilium* et *Fritillaria*, ainsi que sur le sac embryonnaire de ces plantes. Les préparations que MEUNIER a bien voulu faire, à notre demande, sur les endospermes végétaux, en particulier sur celui du *Colchicum autumnale*, à l'aide de l'hématoxyline ferrique, sont également des plus démonstratives à cet égard. Chez le colchique, tous les nucléoles sont dissous en totalité avant le

(1) Voir plus haut, p. 75.

(2) STRASBURGER : *Karyokin. Probleme*, Jahrb. f. wiss. Bot., B. 28, 1895

disparition de la membrane nucléaire; aussi, est-il impossible d'apercevoir la moindre trace d'un de ces corps dans le cytoplasme en division. Divers botanistes ont également constaté la dissolution des nucléoles ou de leurs fragments, lorsqu'ils persistent plus longtemps et arrivent dans le protoplasme. Cette dissolution peut se faire au début de la division, immédiatement après la résolution de la membrane nucléaire, ou plus tard, voire même à la fin de la cinèse seulement. Ces faits nous paraissent aussi certains.

Il faut donc bien admettre que les nucléoles sont loin de se comporter tous de la même façon durant la cinèse.

c) Néanmoins, tôt ou tard, ils subissent le même sort : *ils se dissolvent intégralement*. Telle est l'opinion commune des botanistes; telle est aussi celle de la majorité des zoologistes.

Cependant, parmi les botanistes, ZIMMERMANN (1) et KARSTEN (2) ont récemment fait entendre une voix discordante. D'après le premier de ces savants, les fragments nucléolaires formés dans le noyau seraient rejetés dans le cytoplasme, et là, au lieu de se dissoudre, ils se maintiendraient et seraient repris par les jeunes noyaux pour reconstituer leurs nouveaux nucléoles. KARSTEN admet que le nucléole intégral du *Psilotum triquetrum*, après avoir servi de centrosome dans la division (3), est réintégré dans les noyaux nouveaux. D'après ces auteurs, le nucléole serait donc un élément permanent, se transmettant de division en division : ce qui a donné lieu à l'adage : *omnis nucleolus e nucleolo*.

Cette opinion a été combattue aussitôt avec succès par HUMPHREY, GUIGNARD, BELAJEFF et STRASBURGER (4). - Dans nombre de cas dûment observés, conclut GUIGNARD, les nucléoles disparaissent par résorption totale au cours de la caryocinèse -.

Quelques zoologistes, à la suite de O. HERTWIG (5), ont aussi admis la rentrée du nucléole-corpuscule dans le noyau. Pour HERTWIG, en effet, ce corps est un élément permanent, qui est logé dans le noyau au repos et en sort au début de chaque division, pour y rentrer ensuite. BRAUER a accepté ces idées, seulement il regarde le centrosome comme distinct du nucléole. Quant à JULIN, il est également partisan de la réintégration du nucléole, mais il

(1) ZIMMERMANN : *Beiträge z. Phys. d. Pflanzenzelle*; B. II, 1893.

(2) KARSTEN : *Die Beziehungen der Nucleolen zu den Centrosomen bei Psilotum triquetrum*; Ber. d. deutsch. bot. Ges., XI, 1894.

(3) Voir plus loin, p. 149.

(4) Voir STRASBURGER : l. c.

(5) O. HERTWIG : *La Cellule, etc.*, p. 55.

n'admet pas qu'il soit un organe permanent; il est résorbé après sa rentrée dans le noyau et remplacé par un élément nouveau.

Nous ne pouvons admettre cette réintégration du nucléole-corpuscule dans le noyau, pas plus chez les animaux que chez les végétaux. Elle n'est qu'apparente.

Nous avons vu que, chez l'*Ascaris*, les nouveaux nucléoles se reformaient très tôt dans la couronne, avant même que la nouvelle membrane nucléaire ne fût élaborée, et qu'ils sont déjà volumineux lorsque celle-ci s'est établie, FIG. 13 et 14, PL. II. D'un autre côté, les centrosomes des asters commencent à disparaître à la même étape. C'est cette coïncidence qui a induit les observateurs en erreur, et qui les a portés à admettre que les corpuscules émigraient vers les nouveaux noyaux à la fin de la cinèse. En réalité, aucun lien n'existe entre la disparition des corpuscules anciens et l'apparition des nucléoles nouveaux dans les noyaux récents : les premiers se sont dissous; les seconds sont de formation nouvelle.

Chez les végétaux, la formation des nouveaux nucléoles est également très précoce. Ce fait a déjà été constaté par maints observateurs, et les recherches récentes qui ont été faites à ce sujet, dans notre institut, sur les endospermes végétaux nous autorisent à affirmer qu'elle est presque aussi prompte que chez l'*Ascaris*, et qu'elle se fait semblablement.

Nous nous réservons de publier plus tard, s'il y a lieu, les résultats de ces recherches. Pour le moment, qu'il nous suffise d'affirmer que nous n'avons pu découvrir le moindre indice du passage des nucléoles anciens dans les noyaux nouveaux; ils finissent toujours par disparaître dans le cytoplasme, parfois assez tardivement, il est vrai.

Nos observations sur les végétaux ne font que confirmer celles des savants qui ont combattu l'opinion de ZIMMERMANN et de KARSTEN.

4° *Rôle des nucléoles.*

Nous admettons donc que les nucléoles plasmatiques se dissolvent et disparaissent à chaque cinèse : soit à l'intérieur du noyau, soit dans le cytoplasme; soit directement, soit après avoir subi la fragmentation.

S'il en est ainsi, on peut se demander s'ils ont un rôle à jouer dans la division.

Cette question a été agitée depuis longtemps par les observateurs, sans qu'ils soient parvenus à se mettre d'accord.

a) La plupart des auteurs sont d'avis que les nucléoles disparaissent sans jouer un rôle spécial dans la division, ou bien ils se contentent d'avouer qu'ils ne connaissent leur destinée.

b) FLEMMING, WENDT et d'autres auteurs pensent que la substance des nucléoles est absorbée par les éléments chromatiques, parce que ceux-ci deviennent safranophiles quand les nucléoles ont disparu, de cyanophiles qu'ils étaient auparavant. WENDT admet, en outre, que la substance nucléolaire sort des chromosomes après la division, pour former les nucléoles des noyaux-filles, et que c'est pour cette raison que les chromosomes redeviennent cyanophiles. HERTWIG soutient également que certains fragments nucléolaires sont incorporés comme tels par les chromosomes, tandis que d'autres formeraient le centrosome.

Inutile de dire que les colorants sont impuissants à nous éclairer sur ce point; la teinte des chromosomes peut varier pendant la division pour bien d'autres raisons que celle alléguée par ces auteurs. Ensuite il est bien possible, lorsque les nucléoles se dissolvent à l'intérieur du noyau, ce qui se voit, avons-nous dit, qu'une partie de la substance dissoute pénètre dans les chromosomes comme dans tous les autres éléments nucléaires. Mais cela ne prouve nullement qu'ils n'aient un autre rôle plus important à remplir.

BOVERI et HERLA, ainsi que plusieurs autres observateurs ont déjà combattu cette opinion (1).

c) STRASBURGER croit, au contraire, que ce sont les éléments achromatiques : filaments du fuseau, plaque cellulaire, nouvelle membrane nucléaire qui profitent de la substance nucléolaire et s'en accroissent. C'est là une hypothèse qui demanderait à être justifiée.

d) Enfin, plus récemment, plusieurs observateurs ont pensé que les nucléoles pourraient bien fournir les corpuscules de division, après leur sortie du noyau.

Déjà en 1888, BOLLES-LEE (2) avait observé dans son étude sur les spermatides de *Sagitta* la sortie du noyau, au moment de la division, d'un corpuscule en tout semblable à un nucléole.

O. HERTWIG (3) est porté à considérer le nucléole des spermatocytes de l'*Ascaris* comme étant le point de départ du centrosome de division; il avoue cependant que ses études ne lui permettent pas d'émettre une opinion certaine à ce sujet.

KARSTEN (4) est beaucoup plus affirmatif que O. HERTWIG. Chez le

(1) Voir ci-dessus, p. 105.

(2) BOLLES-LEE : *La spermatogénèse chez les chétognathes*; La Cellule, t. IV, 1, 1888.

(3) O. HERTWIG : *La Cellule*, etc., p. 194, p. 55, édit. franç.

(4) KARSTEN : *Die Beziehungen der Nucleolen zu den Centrosomen bei Psilotum triquetrum*; Ber. d. deutsch. bot. Ges., XI, 1894.

Psilotum triquetrum, les corpuscules proviennent certainement des nucléoles. Au moment de la cinèse, ceux-ci se rapprochent de la membrane nucléaire et passent dans le cytoplasme, en même temps que cette membrane se résorbe. Là, ils se rendent, sans doute, aux deux pôles du fuseau nucléaire pour y jouer le rôle de corpuscules. Lorsque leur nombre dépasse deux, il se réduit à ce chiffre par fusion, ou par dissolution des nucléoles superflus.

Dans sa communication préliminaire sur les glandes sexuelles de la *Stylopsis grossularia*, JULIN (1) émet un avis semblable. D'après lui, en effet, le centrosome dérive du nucléole, qui lui-même se forme aux dépens d'une partie de la chromatine.

FARMER (2) croit également que les nucléoles ne sont pas étrangers à la formation du corpuscule dans les divisions des cellules-mères polliniques du *Lilium martagon*.

De la coïncidence qu'il a remarquée entre l'apparition du centrosome et la disparition des nucléoles dans les cellules spermatiques du *Bombyx mori*, TOYAMA NOGAKUSHI (3) est porté à admettre, sans en être certain, l'origine nucléolaire du corpuscule.

A la suite de son étude sur la division des ovogonies de l'*Ascaris megalocephala*, VON WASIELEWSKI (4) conclut si non à l'identité des nucléoles et des corpuscules, du moins à une relation très étroite entre ces corps, et il ajoute que les recherches ultérieures, exécutées avec d'autres méthodes, pourront sans doute déterminer avec certitude le rôle des nucléoles dans la division.

WAGER (5) est disposé à admettre que les corps archoplasmiques proviennent du noyau et sont formés par les nucléoles, chez les basides des champignons qu'il a étudiés.

LAVDOWSKY (6) admet franchement l'origine nucléolaire du corpuscule de division. Ce corpuscule serait fourni par le nucléolule ou sphérule cen-

(1) JULIN : *Structure et développement des glandes sexuelles : ovogénèse, spermatogénèse et fécondation chez Stylopsis grossularia*; Bullet. scientifiq. de la France et de la Belgique, XXIV, 1893.

(2) FARMER : *On nuclear division in the pollen-mother cells of Lilium martagon*; Ann. of Bot., VII, 1893, p. 392.

(3) TOYAMA NOGAKUSHI : *On the spermatogenesis of the silk-worm*; Bullet. of the agricultural College Imper. Univ. Tokyo, Japan, II, 1894.

(4) VON WASIELEWSKI : *Die Keimzone in den Genitalschläuchen von Ascaris megalocephala*; Arch. f. mikr. Anat., t. 41, 1893.

(5) WAGER : *On the presence of Centrospheres in fungi*; Annals of Botany, V, 1894.

(6) LAVDOWSKY : *Von der Entstehung der chromatischen und achromatischen Substanzen in den thierischen und pflanzlichen Zellen*; Anat. Hefte, 1894.

trale des nucléoles; la partie périphérique de ces derniers tomberait en morceaux et serait résorbée. Il figure une cellule avec les ouvertures béantes par lesquelles s'échapperaient les nucléoles.

BALBIANI (1), dans un travail récent, a assimilé le nucléole à une sphère attractive munie de son centrosome. Il se range du côté de ceux qui n'établissent pas de différence fondamentale entre un nucléole et un centrosome, et considèrent ces éléments comme morphologiquement homologues, mais dont le rôle varie suivant qu'ils persistent dans le noyau ou en sont expulsés.

On voit, par cet exposé, que l'origine nucléolaire du centrosome est loin d'être établie sur des faits positifs.

La plupart des auteurs : HERTWIG, VON WASIELEWSKI, TOYAMA, etc., concluent à cette origine en se fondant uniquement sur la coïncidence entre l'apparition du centrosome et la disparition du nucléole. Cela n'est pas suffisant pour entraîner la conviction, loin de là.

JULIN base son opinion sur l'identité de teinte que prennent le nucléole et le corpuscule par la triple coloration de FLEMING. On peut contester à bon droit la valeur d'un pareil criterium, ainsi que l'a déjà fait observer PRENANT (2).

Les observations de KARSTEN et de LAVDOWSKI ne sont pas non plus absolument convaincantes, bien qu'elles soient plus précises. Les résultats de KARSTEN ont été mis en doute par HUMPHREY et GUIGNARD, mais les raisons alléguées par ces deux savants n'ont pas grande valeur. A notre avis, une chose manque aux observations de KARSTEN : il n'a pas constaté à suffisance que le nucléole devenait le centre du rayonnement astérien. Il ne suffit pas, en effet, de montrer que le nucléole s'échappe dans le cytoplasme, il faut encore, et surtout, prouver que c'est lui qui joue le rôle du corpuscule et produit l'aster.

Les observations de LAVDOWSKI sont passibles du même reproche. En outre, nous pensons que sa figure qui représente un noyau avec des ouvertures saillantes pour laisser passer les nucléoles, n'est pas conforme à la réalité; ce noyau semble avoir été gonflé et crevé par les réactifs. Nous n'avons jamais rien vu de semblable dans nos recherches sur le nucléole végétal. Il y a, du reste, dans le travail que nous critiquons, plusieurs détails indiquant que les matériaux qui ont servi aux recherches de l'auteur ont été fort détériorés.

(1) BALBIANI : *Sur la structure et division du noyau chez le Spirochona gemmipara*; Ann. de micrographie, 1895.

(2) PRENANT : *Sur le corpusc. central*; Bull. Soc. Sc., Nancy. 1894, p. 29.

On connaît notre opinion au sujet du rôle des nucléoles plasmatiques ou nucléoles vrais :

Chez l'Ascaris megalocephala, ce sont des corpuscules polaires au repos, qui émigrent du noyau au début de la cinèse et entrent aussitôt en fonctions; ce sont des organites de division.

Nous laissons au lecteur le soin d'apprécier jusqu'à quel point nous avons réussi à fournir la preuve de cette thèse.

Loin de nous la pensée de faire porter nos conclusions plus loin que nos observations elles-mêmes; c'est pourquoi nous écrivons : *chez l'Ascaris megalocephala*. Néanmoins, on peut regarder comme probable l'opinion qui admettrait que tous les vrais nucléoles plasmatiques doivent jouer le même rôle, étant données l'identité de leur composition, l'analogie de leurs propriétés et la généralité de leur présence dans les deux règnes. On doit aussi tenir compte des observations qui ont été rapportées par les auteurs que nous venons de citer, et qui tentent à faire attribuer aux corpuscules une origine nucléolaire.

Il est possible cependant de soulever plusieurs objections contre cette manière de voir.

a) On pourrait se demander d'abord s'il n'y aurait pas dans le noyau plusieurs sortes de corps nucléolaires ayant sensiblement les mêmes propriétés et les mêmes réactions, mais dont les uns seraient de vrais corpuscules de division, et les autres des nucléoles proprement dits.

BRAUER admet qu'il en est ainsi dans les spermatocytes de l'*Ascaris*; il établit une distinction nette entre le corpuscule, qui est volumineux et renferme un nodule central, et les nucléoles, qui sont homogènes et de moindre taille. Mais les raisons qu'il apporte à l'appui de son interprétation ne nous paraissent pas probantes.

Nous savons en effet que, dans les noyaux sexuels et les noyaux de segmentation, il y a assez souvent des nucléoles multiples et très différents de volume. BRAUER n'aurait-il pas eu devant lui un cas semblable? C'est bien probable. Il eût alors considéré indûment le nucléole le plus volumineux comme un centrosome, à l'exclusion des autres. Les observations de BRAUER doivent être reprises à l'aide de l'hématoxyline ferrique. Il faudrait surtout étudier la génèse des nucléoles dans les couronnes de la dernière division des spermatogonies et dans les jeunes noyaux qui en résultent. On pourrait alors vérifier, peut-être, si les choses se passent comme dans les jeunes noyaux sexuels et les couronnes de segmentation, c'est-à-dire : si les nucléoles

ont la même origine, s'ils sont multiples dès le début et, enfin, s'ils se fusionnent durant le développement. S'il en était ainsi, ce qui nous paraît assez probable, tous les nucléoles seraient identiques et représenteraient de véritables corpuscules, variables seulement par leurs dimensions.

KARSTEN considère les nucléoles multiples du *Psilotum* comme étant de même nature. Car, dit-il, lorsque leur nombre dépasse deux, ils se fusionnent, ou les superflus se dissolvent au moment de la cinèse et ne servent pas. Ce langage fait supposer qu'il n'établit pas de distinction entre eux, qu'ils les considère tout comme des corpuscules.

LAVDOWSKI semble être du même avis.

Parmi les auteurs qui ont admis l'origine nucléolaire du centrosome, aucun n'a songé à établir la distinction admise par BRAUER.

Il faut bien avouer cependant que l'attention des observateurs n'a pas été appelée suffisamment sur ce point. De nombreuses recherches sont encore nécessaires pour élucider la question.

b) Une autre objection, plus sérieuse en apparence, est celle que l'on pourrait tirer de la diversité des modifications que subissent les nucléoles pendant la cinèse. Chez l'*Ascaris*, le nucléole sort du noyau et entre immédiatement en fonction comme centrosome. Si les choses se passaient ainsi partout, elles ne soulèveraient aucune difficulté. Mais il n'en est pas ainsi (1). Ici, le nucléole tombe en morceaux : soit dans le noyau, soit dans le cytoplasme; là, fait beaucoup plus grave, il se dissout entièrement, avant même que la membrane nucléaire ne se soit effacée. Comment, dans ces conditions, peut-il servir de corpuscule de division?

Cette objection ne nous paraît pas insoluble. En parlant du rôle des corpuscules et de la manière dont ils l'exercent, nous avons insisté sur ce fait : que le corpuscule agit comme substance chimique, plutôt que comme corps morphologique. Ce sont, avons-nous dit, les substances nucléo-albumineuses qu'il renferme qui mettent en jeu l'irritabilité du cytoplasme pour former l'aster, et celle du noyau pour former le fuseau. Aussi, entre-t-il bientôt en dissolution : *c'est en se dissolvant qu'il agit*. S'il en est ainsi, il importe peu que le nucléole se fragmente ou reste entier, pourvu qu'il parvienne à se fondre.

Lorsque sa liquéfaction est précoce à l'intérieur du noyau intact, le caryoplasme qui en est imbibé subit son influence bien plus facilement que

(1) Voir plus haut, p. 146.

lorsque sa résolution a lieu en dehors dans le protoplasme. Celui-ci, de son côté, ne tardera pas à ressentir son action, grâce à l'osmose d'abord, et à la résolution de la membrane nucléaire ensuite. Le fuseau et l'irradiation astérienne pourront donc s'établir sans retard et aisément, *bien qu'il n'y ait pas de centrosome figuré dans le cytoplasme*.

Dans le cas où les fragments nucléolaires amenés dans le protoplasme se dissolvent très vite, il ne peut non plus y avoir de corpuscule visible dans la figure.

Il en serait de même si le nucléole intact se liquéfiait incontinent au moment de sa libération.

Telle est, selon nous, l'explication qu'il faut donner des cinèses dans lesquelles les observateurs les plus minutieux n'ont pu découvrir la présence de corpuscules. La dissolution de celui-ci a eu lieu très tôt; il n'y a pas d'autre différence entre ces cinèses acentrosomiques et les autres.

Ce serait donc bien inutilement qu'on se serait tant chamaillé à propos de l'existence ou de la nécessité d'un corpuscule figuré pour opérer la division.

Nous avons cherché à soumettre cette explication au contrôle de l'observation. Si elle est fondée, on ne peut trouver de corpuscule polaire au sein des figures cinétiques, lorsque le nucléole disparaît intégralement dans le noyau, dès le premier début de la cinèse. Cette condition est remplie dans l'endosperme de plusieurs végétaux, du colchique en particulier. Or, sur les préparations à l'hématoxyline ferrique, traitées avec le plus grand soin, nous n'avons pu, sur des centaines de figures, saisir la moindre trace d'un corpuscule polaire.

C'est peut-être à cause de la résolution précoce du nucléole, que les corpuscules paraissent si rares chez les végétaux, et que les asters y sont moins réguliers et moins accentués.

C'est pour cette raison également que, à côté de divisions à corpuscules, on en trouve d'autres qui en sont dépourvues. Ce fait, déjà mentionné dans la *Cytodièrese*, en 1883 (1), nous l'avons constaté également durant nos recherches subséquentes.

Ainsi, lorsqu'on examine attentivement les œufs en segmentation de l'*Ascaris*, on en trouve, çà et là, sans corpuscules visibles, déjà avant le stade de la couronne équatoriale, sur des préparations parfaitement réussies. On serait porté à croire que cette absence est due à la décoloration, mais nous pensons qu'il n'en est pas ainsi. Car, les corpuscules qui sont réduits à de

(1) J. B. CARNOY : *La Cytodièrese chez les Arthropodes*; La Cellule, t. 1, p. 349.

simples granulations dans des figures plus avancées sont marqués avec la plus grande netteté, sur les mêmes coupes et aux mêmes endroits de la coupe. Selon nous, cette absence est due à une dissolution précoce du centrosome.

Quoi qu'il en soit de ce dernier détail, *de l'absence de corpuscule dans la figure on ne peut conclure à l'absence de corpuscule dans la division.*

c) On pourrait insister encore. On ne peut admettre la dissolution dont vous parlez; car, tous les auteurs, même ceux qui ne sont pas partisans de la permanence du centrosome : tels que BÜRGER, WATASÉ, MITROPHANOW, JULIN, REINKE, WILSON, sont obligés néanmoins de reconnaître que dans les cas où les divisions se font rapidement et coup sur coup, comme dans la segmentation des œufs ou la double cinèse des spermatocytes, c'est le même centrosome qui fonctionne, en se multipliant lui-même à chaque division, sans disparaître jamais des cellules.

Cette nouvelle objection n'est rien moins que fondée. En effet, la permanence et la multiplication du centrosome dans les divisions rapides, sur lesquelles elle s'appuie, ne sont pas plus réelles que dans les divisions séparées par un long temps de repos. Ce sont des apparences. Les faits décrits dans ce mémoire le prouvent suffisamment.

D'abord, les corpuscules s'évanouissent à chaque cinèse. Seulement, lorsque les divisions se succèdent rapidement, ils ont à peine disparu que les nouveaux sortent des noyaux pour opérer la cinèse suivante, et l'on a cru bien à tort que ceux-ci n'étaient que la continuation des premiers.

Quant à la division des corpuscules dans les asters, elle n'est pas plus réelle.

Beaucoup d'auteurs ont signalé la présence de corpuscules multiples au sein des asters. En 1885, époque à laquelle ces corps étaient déjà l'objet d'études sérieuses à Louvain, on a appelé l'attention sur ce fait dans la *Cytodiérèse*, en décrivant les corpuscules multiples dans les cellules spermatiques des crustacés et des myriapodes. La fig. 246, pl. VII, représente une cellule testiculaire d'*Astacus* portant trois gros corpuscules au milieu de chaque aster, et d'autres cellules avec des corpuscules plus nombreux encore. PRENANT⁽¹⁾ affirme avoir retrouvé ces corps dans les mêmes cellules. HENNEGUY représente également des corpuscules multiples dans les figures de segmentation de la truite⁽²⁾.

(1) PRENANT : *Sur le corpuscule central*; p. 9, en note.

(2) HENNEGUY : *Leçons sur la cellule*; p. 312, fig. 208.

Depuis lors, plusieurs auteurs ont constaté, à la fin de la cinèse surtout, l'existence de plusieurs corpuscules. Les uns en ont vu deux; les autres, trois et même quatre à chaque pôle. Souvent les deux pôles se comportent différemment à cet égard; on en trouve un d'un côté et deux de l'autre. ISHIKAWA en trouve deux d'un côté et trois de l'autre, etc. Nous ne pouvons entrer dans plus de développements; ce serait, d'ailleurs, inutile.

Or, les auteurs voient dans cette multiplicité un phénomène de division normale du centrosome. Lorsque les deux pôles renferment respectivement un et deux corpuscules, ils disent que la division est plus précoce à un pôle qu'à l'autre. Lorsqu'il y a trois corpuscules, c'est que l'un des deux, qui sont issus de la première division, s'est déjà divisé une seconde fois; tandis que, lorsqu'ils se sont divisés tous deux, on en trouve quatre, etc., etc.

Le lecteur sait que nous n'admettons pas cette interprétation(1). Nous voyons dans cette multiplicité le résultat d'une simple fragmentation, précurseur de la dissolution. Phénomène toujours très irrégulier de sa nature : il peut se présenter à un pôle, et pas à l'autre; il peut donner naissance à un nombre variable de corpuscules-fragments : ici à deux, là à trois, ailleurs à un plus grand nombre, etc., et ces corpuscules peuvent être de volume très différent comme dans la figure de HENNEGUY, par exemple.

Nous retrouvons donc ici *la fragmentation des nucléoles végétaux*; seulement, cette fragmentation est plus tardive que dans la majorité des cas signalés chez les plantes.

Nous avons ajouté que ce phénomène était l'avant-coureur de la dissolution. En effet, nous savons que les corpuscules ne servent qu'une fois, et qu'ils finissent toujours par se liquéfier intégralement dans le cytoplasme.

Nous ne voulons pas nier que, dans certaines circonstances, ils ne puissent rester pendant un temps plus ou moins long dans le cytoplasme au repos, à côté du nouveau noyau : il y a là une question de fait qu'il s'agit de vérifier dans les cas particuliers. Ce que nous ne pouvons admettre, c'est que de pareils centrosomes conservent leur activité et servent à la division suivante.

Du reste, nous ne pouvons nous empêcher de penser que les auteurs qui ont cru voir des corpuscules dans les cellules au repos, ont considéré comme tels des corps étrangers, spécialement des sphérules ou des enclaves nucléo-albumineuses qui présentent, nous l'avons vu, les réactions des centrosomes vis-à-vis de l'hématoxyline ferrique. Et, comme beaucoup de ces

(1) Voir plus haut, p. 119.

corps en voie d'activité chimique produisent aisément des irradiations dans le cytoplasme environnant, les partisans des sphères ont conclu à l'existence de celles-ci,.... lorsqu'ils n'ont pas pris pour telles les corps les plus disparates de la cellule (1) !

5° *Origine des nucléoles et des corpuscules.*

1° *Opinions des auteurs.* En 1882, STRASBURGER (2) émit l'opinion que les nucléoles dérivent de l'élément nucléinien; il considérait, en effet, ces corps comme des microsomes qui ont grandi et ont fini par sortir du boyau.

La *Biologie* (3) a combattu cette opinion et a attribué aux nucléoles une origine caryoplasmique, en se basant sur ce fait qu'ils ne renfermaient pas de composé nucléinien, qu'on y trouvait seulement de la plastine et de l'albumine. Cette raison tombe d'elle-même aujourd'hui que nous y avons reconnu l'existence d'une substance nucléo-albumineuse.

JULIN admet l'opinion de STRASBURGER.

SCHEWIAKOFF (4) attribue au contraire une origine achromatique au nucléole-corpuscule des noyaux de l'*Euglypha alveolata*.

Nous avons vu que certains auteurs pensaient avec ZIMMERMANN que les nucléoles étaient des corps *sui generis*, autonomes et permanents, dérivant toujours par division d'un nucléole préexistant.

Beaucoup de naturalistes ne se sont pas prononcés sur cette question de l'origine des nucléoles.

Nous avons eu l'occasion dans le courant de ce mémoire de parler de l'opinion des auteurs sur l'origine du corpuscule polaire.

Nous connaissons la manière de voir de BOVERI, qui a été admise par le plus grand nombre des auteurs modernes : le corpuscule originel dérive du corps spermatique et se maintient, par segmentation régulière, de division en division, durant tout le développement. Il constitue donc un corps permanent.

Pour VAN BENEDEN et HERLA, les corpuscules sont également des corps permanents, mais les corpuscules originels, ceux de la première segmentation, apparaissent d'un coup dans le cytoplasme, et doivent par conséquent en dériver.

(1) Voir, à ce sujet, notre récent travail : *La résic. germinat. des batraciens*, p. 268.

(2) STRASBURGER : *Ueber d. Theilungsvorg. d. Zellkerns*; Arch. f. mik. Anat., 1882, p. 570, etc.

(3) J. B. CARNOY : *La biologie cellulaire*; 1884, p. 249.

(4) SCHEWIAKOFF : *Ueber d. karyok. Kerntheilung, etc.*; Morph. Jahrb., B. XIII, 1887.

Pour ces auteurs, le corpuscule reste dans le cytoplasme en permanence; il ne rentre pas dans le noyau.

Pour d'autres, qui admettent également l'origine spermatique et la permanence du corpuscule, celui-ci, après chaque cinèse, rentrerait dans le noyau où il passerait son temps de repos : excepté lorsque les divisions se succèdent rapidement; il reste alors entretemps dans le cytoplasme. Telle est l'opinion de O. HERTWIG.

Parmi les auteurs qui ont contesté la permanence du corpuscule, beaucoup admettent qu'il se forme à chaque cinèse dans le cytoplasme. D'autres prétendent que ce ne sont pas des corps particuliers, que ce sont des modifications transitoires et inconstantes, chimiques ou physiques du cytoplasme.

JULIN, au contraire, soutient qu'il se forme dans le noyau, d'où il sort pour opérer la cinèse, et où il rentre pour mourir et être remplacé par un autre. Cependant, d'après JULIN, le corpuscule de la première segmentation dériverait du corps spermatique. Après les deux divisions qui ont donné les 4 spermatides, le centrosome, contrairement à ce que l'auteur admet pour les autres divisions, se dissout dans le cytoplasme, ne rentre pas dans le noyau. Or, il s'en forme un nouveau dans le noyau de chaque spermatide, mais il en sort sans tarder pour aller se loger dans le corps du spermatozoïde : c'est lui qui sera le centrosome de segmentation.

Les auteurs dont nous venons de parler, c'est-à-dire qui ne sont pas partisans de la permanence du corpuscule, admettent cependant avec HERTWIG que c'est le même centrosome qui sert, lorsque les divisions se succèdent rapidement, comme dans la segmentation de l'œuf et la formation des spermatides.

HEIDENHAIN est plus radical. Pour lui, les corpuscules sont des éléments *sui generis*. Ils ne dérivent ni du cytoplasme ni du noyau; mais ils constituent une partie intégrante de la cellule, au même titre que le protoplasme et le noyau, et ils se multiplient comme eux pendant la division : *omne centrosoma e centrosomate*.

Cette opinion concorde avec celle de ZIMMERMANN sur les nucléoles⁽¹⁾.

On voit qu'on a émis toutes les opinions possibles sur la provenance du corpuscule. Nous en passons sous silence, et plus d'une!

La plupart de ces opinions ont déjà été suffisamment réfutées dans le courant de ce travail.

Nous savons que le centrosome originel de BOVERI ne dérive pas du

(1) Voir ci-dessus, p. 147.

spermatozoïde. Les centrosomes originels de VAN BENEDEN et HERLA, ce sont les corpuscules qui viennent de s'échapper des noyaux sexuels. Les corpuscules ne sont jamais permanents; ils disparaissent toujours après la cinèse, tout aussi bien lorsque celle-ci s'exécute coup sur coup que lorsqu'elle se répète à de longs intervalles seulement. Le lecteur se rappelle que nous venons de combattre l'opinion de ceux qui sont partisans de la réintégration du corpuscule dans le noyau (1).

Nous avons montré plus haut (2) que les corpuscules qui se forment de bonne heure dans les noyaux sexuels y demeurent enfermés jusqu'au moment de la segmentation, loin d'en sortir de suite et d'aller se loger dans le cytoplasme, comme l'affirme JULIN. Enfin le corpuscule ne naît jamais dans le cytoplasme; il est toujours d'origine nucléaire.

2° *Mode de formation des corpuscules.* D'un autre côté, on a bien peu de données sur le mode de formation *précis* des corpuscules, ou des nucléoles-corpuscules. JULIN qui est si catégorique en affirmant l'origine chromatique du nucléole-corpuscule des *Styelopsis*, ne donne aucun détail circonstancié sur son mode de formation. STRASBURGER est peut-être le seul qui ait observé la genèse des nucléoles. Il a vu dans le boyau des microsomes qui augmentaient de volume et devenaient semblables à de petits nucléoles qui plus tard étaient mis en liberté. Mais il ne paraît pas que l'auteur ait constaté leur migration dans le caryoplasme. C'est cependant là un point essentiel. Car, on peut observer souvent dans le boyau des sphérules semblables, qui font partie de l'élément nucléinien et qui ne sont nullement destinées à devenir des nucléoles.

Le mode de formation des nucléoles-corpuscules chez l'*Ascaris* présente beaucoup d'analogie avec celui qu'a décrit STRASBURGER chez les végétaux. Nous avons donné assez de détails à ce sujet pour ne plus y revenir longuement.

Dans les jeunes noyaux sexuels, ils apparaissent à l'extrémité de l'un ou l'autre bâtonnet sous la forme d'une sphérule qui s'en détache, ou bien dans un prolongement émis par l'un d'eux.

Pendant la segmentation, les nucléoles naissent dans le boyau nucléinien, au stade des couronnes polaires, vers le milieu des anses. On les y voit apparaître sous la forme de petites sphérules, souvent multiples, qui

(1) Ci-devant, p. 147.

(2) Voir plus haut, p. 102.

sont mises en liberté, sans tarder, par résorption de la portion du boyau qui les contient.

Ils grossissent alors rapidement. En même temps, ils se fusionnent, s'ils ne l'avaient fait déjà avant leur mise en liberté, jusqu'à se réduire, en règle générale, au nombre de deux dans chaque noyau.

Nous avons cherché à surprendre leur mode d'accroissement, sans y parvenir. On aurait pu penser qu'ils augmentaient de volume en accumulant autour d'eux une portion de caryoplasme, de façon à former un nucléole avec son nucléolule. — C'est encore là une des raisons pour lesquelles nous avons recherché un globule central dans ces corps. — Ils nous ont toujours paru homogènes pendant tout leur développement. On pourrait peut-être en conclure qu'ils s'accroissent d'eux-mêmes par nutrition, à la façon d'un corps organisé; mais nous préférons ne pas entrer dans le domaine de l'hypothèse,

Que les grains primitifs se fusionnent souvent, c'est un fait certain. Car nous avons compté bien des fois de 3 à 5 sphérules dans chaque pont, chez *l'univalens*. Nous ne voulons pas affirmer, cependant, qu'il y ait toujours fusion. En effet, à plus d'une reprise aussi, nous avons vu un seul globule au milieu du pont, ou au bout de l'un ou l'autre des deux bâtonnets déjà libérés. Peut-être y avait-il déjà eu alors fusion entre les granules primitifs.

On peut constater sur la FIG. 10, PL. II, que chaque anse donne naissance à un corpuscule; dans ce cas il y a un corpuscule paternel et un maternel. Mais on en trouve aussi parfois 4 ou 5 de libres à chaque pôle de la figure, les ponts ayant complètement disparu. Il est bien probable qu'alors ces granules peuvent se fusionner indifféremment, suivant qu'ils se rencontrent, et donner des nucléoles mixtes, c'est-à-dire qui sont à la fois d'origine paternelle et maternelle. Toujours est-il que, chez *l'univalens*, les deux anses de la couronne participent à la formation des deux nucléoles définitifs; ceux-ci sont donc toujours d'une double origine et d'une double nature.

Il est impossible, à cause du plus grand nombre de bâtonnets, de saisir exactement ce qui se passe au sein des couronnes du *bivalens*, mais on peut s'assurer que les nucléoles se forment de la même manière, au milieu de chaque anse, et qu'ils se fusionnent aussi (1). Ils sont donc également d'origine paternelle et maternelle.

(1) Voir ci-dessus, p. 132.

Ce fait de la double origine des corpuscules de chaque noyau pourrait peut-être acquérir de l'importance, s'il pouvait être généralisé. C'est à l'observation attentive des phénomènes qui se passent chez les autres animaux de nous dire s'il en est ainsi, ou bien s'il ne faut voir dans cette duplicité d'origine qu'un fait accidentel et particulier à l'*Ascaris*.

Quoi qu'il en soit, la provenance nucléinienne des corpuscules nous paraît certaine.

Pour leur donner naissance, la nucléine du boyau subit des changements, car ces corps ont des propriétés qui les distinguent de l'élément nucléinien proprement dit. Nous avons insisté plus haut sur ce point. On peut admettre, comme nous l'avons fait, qu'ils renferment un dérivé prochain de la nucléine, une nucléo-albumine. L'acide nucléinique du boyau, en perdant ses bases, se transformerait en un acide paranucléinique⁽¹⁾, peut-être de nature spéciale, qui en s'unissant à l'albumine fournirait le composé nucléinien des corpuscules et des nucléoles. Ceux-ci sont donc de nature complexe; ils renferment, outre la plastine et l'albumine, une nucléo-albumine particulière.

C'est grâce surtout à cette dernière substance, que les nucléoles jouent un rôle si actif dans la division.

(1) J. B. CARNOY et LEBRUN : *La vesic. etc. des batraciens*; p. 197 et 254.

CHAPITRE VI.

Fécondation et hérédité.

§ 1.

Fécondation.

La fécondation est l'acte par lequel l'œuf devient capable de segmentation et de développement normal, c'est-à-dire capable de donner naissance à un nouvel individu.

En quoi consiste cet acte ?

La plus grande divergence d'opinion a régné entre les savants à ce sujet.

Après la découverte de la pénétration du spermatozoïde et de sa disparition dans l'œuf, on était généralement porté à considérer la fécondation comme une fusion intégrale de deux cellules d'origine différente, l'une mâle, l'autre femelle.

Bientôt O. HERTWIG restreignit cette définition. Ayant observé la fusion des deux noyaux sexuels au sein de l'œuf, il considéra cette fusion comme l'acte essentiel de la fécondation; le protoplasme du spermatozoïde n'y contribue en rien; celui-ci n'apporte qu'un noyau.

Cette opinion eut cours pendant quelque temps, jusqu'à l'apparition du travail de BOVERI sur *Ascaris*.

BOVERI ayant cru constater que le corps spermatique envoyait dans l'œuf un centrosome destiné à en déterminer la segmentation, imagina une théorie nouvelle qui a été acceptée aussitôt par la généralité des savants, un peu à la légère, il faut bien le dire, et sans examen suffisant.

Le lecteur aura vu par ce qui précède que cette théorie ne peut plus se soutenir, car elle pêche par la base et est absolument contraire aux faits.

Résumons la brièvement, d'après BOVERI lui-même (1).

I. *Théorie de Boveri; sa réfutation.*

1^{re} L'œuf et le spermatozoïde mûrs sont incapables de se développer par eux-mêmes; il leur manque quelque chose. L'œuf manque de centrosome, ou du moins son centrosome est dégradé, atténué. Quant au spermatozoïde, il manque de protoplasme; le peu qu'il possède est trop différencié pour pouvoir servir encore.

(1) BOVERI : *Befruchtung*; Ergebnisse f. Anat., etc., t. 1, 1891; Wiesbaden, 1892, p. 386.

2° Or, lors de la fécondation, ce qui manque à une cellule l'autre l'apporte; le corps de l'œuf fournit le protoplasme, celui du spermatozoïde, le centrosome. C'est ainsi que les deux cellules se complètent en produisant une individualité nouvelle et capable de développement.

3° L'apport du centrosome spermatique suffit au développement de l'œuf. Car la fusion des deux noyaux sexuels, leur présence même n'est pas nécessaire; un seul noyau suffit, qu'il soit mâle ou femelle. BOVERI a cherché à appuyer cette assertion sur les données de l'expérimentation.

A. Après avoir secoué des œufs de *Sphaerechinus granularis* de façon à en détacher des portions sans noyau, il opère la fécondation croisée avec du sperme d'*Echinus microtuberculatus*. Or, parmi les larves hybrides typiques provenant d'œufs intacts fécondés, il en trouve d'autres qui sont exclusivement du type paternel, *Echinus*. Celles-ci ont des noyaux très petits, ce qui indique que le noyau seul du spermatozoïde est intervenu dans la segmentation; elles doivent donc dériver des portions d'œufs dépourvues de noyau maternel.

B. D'un autre côté, des œufs où le spermatozoïde a pénétré se développent parfois sans que le noyau de ce dernier intervienne dans la segmentation; il suffit que son centrosome se porte vers le noyau de l'œuf. Le noyau du spermatozoïde reste dans l'une des deux cellules-filles et la segmentation continue ainsi normalement jusqu'à ce que le noyau mâle se fusionne avec celui de la cellule où il se trouve; ce qui se fait seulement parfois après la quatrième ou la sixième segmentation.

Ainsi, un seul noyau : soit celui de l'œuf, soit celui du spermatozoïde, suffit pour opérer la segmentation normale.

4° Le centrosome spermatique se maintient dans le cytoplasme après la première cinèse. Il se divise pour former les deux centrosomes de la division suivante, et ainsi de suite indéfiniment à travers toutes les générations cellulaires; en d'autres termes, ce corps constitue un organe permanent de la cellule.

C'est seulement dans les ovocytes de la génération suivante, qu'il disparaîtra ou entrera en dégénérescence; de là la nécessité de l'introduction d'un nouveau centrosome spermatique pour opérer une nouvelle fécondation.

En résumé, d'après BOVERI, la fécondation consiste essentiellement dans l'apport du centrosome somatique du spermatozoïde; il en résulte que la segmentation est tout entière sous la dépendance de ce dernier.

Reprenons chacun de ces points.

1° D'après BOVERI, le cytoplasme de l'œuf est dépourvu de centrosome, du moins de centrosome actif.

Mais, nous le savons, il n'y a là rien de particulier à l'œuf. Car, après chaque cinèse, le centrosome disparaît. Toutes les cellules au repos sont donc dépourvues de centrosome *cytoplasmatique* actif, aussi bien que l'ovocyte. Néanmoins, après cette disparition, les cellules ordinaires sont encore capables de segmentation. Ce n'est donc pas dans l'absence de centrosome cytoplasmatique qu'il faut chercher la cause de l'impuissance de l'œuf à se segmenter, ou à se développer. Du reste, ce centrosome existerait qu'il ne pourrait servir à la segmentation, puisque ce sont les centrosomes nucléaires qui interviennent. Il importe donc fort peu qu'il y ait, ou qu'il n'y ait pas de centrosome dans le cytoplasme ovulaire.

2° Lors de la fécondation, le corps du spermatozoïde fournit à l'œuf le centrosome qui lui fait défaut.

C'est là une erreur profonde. Le corps du spermatozoïde ne peut fournir de centrosome actif, puis qu'il en est dépourvu; nous avons vu qu'il n'y a pas de spermocentre. Ce fait renverse toute la théorie de BOVERI.

Le prétendu centrosome de cet auteur, nous l'avons dit, est un corpuscule qui vient de s'échapper d'un pronucleus; celui de KOSTANECKI et de V. ERLANGER n'est que l'une ou l'autre sphérule d'enchylème spermatique, destinée à se dissoudre dans le cytoplasme ovulaire.

Ce n'est donc pas de cette manière que l'œuf peut se compléter et devenir capable de développement.

3° BOVERI s'est efforcé de démontrer expérimentalement qu'un seul des deux noyaux sexuels suffit à la segmentation.

Les expériences de BOVERI ne sont pas probantes.

A. MORGAN (1), ayant répété ces expériences sur des espèces des genres *Asterias* et *Arbacia*, est arrivé à des résultats tout différents.

a) Il fait d'abord observer justement que l'agitation à laquelle on soumet les œufs pour les fragmenter a pour résultat parfois de briser la membrane nucléaire et de rendre ainsi le noyau invisible. Si le contenu de celui-ci persiste en totalité ou en partie avec le centrosome, le développement pourra se faire, et cela *apparemment* avec le noyau spermatique seul, pour un observateur non prévenu. Pour éviter cette objection, BOVERI aurait dû couper les œufs, comme ZIEGLER l'a fait plus tard chez le *Strongylocentrotus lividus*, afin d'être certain que le pronucleus femelle n'était pas lésé et qu'il ne pouvait s'en trouver une portion dans le fragment sans noyau.

(1) MORGAN : *Experim. Studies on Echinoderm Eggs.*; Anat. Anz., IX, n°s 5 et 6, 1894.

b) Jamais, dans les expériences de fécondation croisée bien conduites MORGAN n'a rencontré de larves *exclusivement paternelles*; les produits présentent tous des caractères mixtes. Nous disons dans les expériences bien conduites, car MORGAN a constaté que, pour se mettre à l'abri de toute erreur, il était nécessaire de faire bouillir l'eau de mer dans laquelle on veut expérimenter, afin de détruire les spermatozoïdes ou les œufs qui pourraient s'y trouver. Sans cette précaution, si l'on fait la fécondation croisée, on voit surgir, au milieu des larves mixtes, des larves à caractères ordinaires. Cette circonstance explique, d'après MORGAN, les résultats de BOVERI.

c) On admettrait du reste difficilement aujourd'hui qu'un morceau d'œuf sans noyau, dans lequel on introduit un spermatozoïde, puisse produire une *larve*. D'après les nouvelles expériences de MORGAN (1) et celles de ZIEGLER (2), il donne à peine naissance à une *blastula*; ce qui est bien différent (3).

B. Quant aux expériences dans lesquelles BOVERI croit avoir observé la segmentation à l'aide du noyau femelle seul, à l'exclusion du noyau spermatique, elles ne sont pas non plus de nature à entraîner la conviction.

a) Remarquons d'abord que le centrosome spermatique, qui se porterait près du noyau femelle pour en opérer la segmentation, n'existe pas.

b) Ensuite on peut croire que l'auteur a eu devant lui des cas de polyspermie, si fréquents dans les fécondations artificielles. Un des noyaux spermatiques se fusionne alors avec le noyau ovulaire, qui devient ainsi capable de développement, tandis que l'autre reste inutilisé dans le cytoplasme; c'est la règle dans ces circonstances. Ce noyau superflu est ensuite promené de segmentation en segmentation jusqu'à ce qu'il disparaisse ou se fusionne avec le noyau de la cellule où il se trouve éventuellement. La segmentation dont parle BOVERI serait donc une segmentation ordinaire, s'effectuant à l'aide des deux noyaux conjugués, nullement à l'aide du noyau ovulaire seul.

(1) MORGAN : *The fertilisation of non nucleated Fragments of Echinod. em-Eggs*; Arch. f. Entwickl.-Mechan., II, 2, 1895, p. 263. — L'auteur a poursuivi la division de ces fragments jusqu'au stade de 16 cellules.

(2) ZIEGLER : *Einige Beob. 7. Entw. d. Echinodermen*; Verhand. d. deutsch. Zool. Gesells., 1896, p. 149.

(3) Nous recevons à l'instant les n^{os} 9 et 10 des *Sitz. Bericht d. Phys.-med. Gesellschaft 7. Würzburg*, qui renferment un travail de BOVERI sur la physiologie de la division cellulaire. L'auteur relate certaines expériences qu'il a faites sur des fragments d'œufs dépourvus de noyau et fécondés par un spermatozoïde. Ces fragments se segmentent et donnent naissance à une petite blastula qu'il a pu, dit-il, conserver vivante pendant trois jours, *mais qui est morte ensuite*. — Ces nouveaux résultats de BOVERI sont loin de concorder avec ceux qu'il a publiés autrefois et que nous venons d'analyser.

c) D'ailleurs, les expériences récentes de ZIEGLER (1) ont produit de tout autres résultats que celles de BOVERI. Les fragments d'œufs renfermant le noyau ovulaire, séparés après l'entrée du spermatozoïde, ne se segmentent pas. Le noyau entre en figure, revient au repos, entre en figure de nouveau, etc.; puis le fragment se désagrège complètement (2).

Les expériences sur lesquelles BOVERI s'appuie pour prouver sa thèse, à savoir : que la fusion, la présence même des deux noyaux sexuels n'est pas requise pour le développement de l'œuf, sont donc dénuées de toute valeur. Le pronucleus femelle ne peut pas même achever la première segmentation; le pronucleus mâle peut amener la formation d'une blastula (3). Mais, de là à produire un *individu normal*, il y a un abîme!

(1) ZIEGLER : l. c., p. 150.

(2) BOVERI, dans le travail que nous venons de citer, dit que ses observations récentes confirment pleinement celles de ZIEGLER; il n'a non plus obtenu que des figures sans segmentation des fragments. Ces résultats sont tout différents de ceux qu'il a prétendu avoir obtenus jadis.

(3) Comment expliquer cette inégalité cinétique entre les fragments d'œufs renfermant le pronucleus femelle et les fragments contenant le spermatozoïde?

Récemment, ZIEGLER a cherché à s'en rendre compte. D'après lui, les centrosomes ovulaires qui accompagnent le pronucleus femelle ont perdu de leur activité cinétique (*Theilungskraft*). Ils peuvent encore former des asters; ils peuvent même faire entrer le noyau en figure, mais ils sont incapables d'opérer sa division; au lieu de se séparer en deux moitiés, celui-ci se reconstitue. Le centrosome spermatique a, au contraire, conservé toute son activité. Il lui semble, en outre, que le spermatozoïde, aussitôt qu'il a pénétré dans l'œuf, exerce son action non seulement sur le cytoplasme en déterminant celui-ci à élaborer une membrane autour du fragment, mais aussi sur le pronucleus femelle en y produisant une excitation qui le fait entrer en mitose. On sait que des fragments d'œufs semblables, mais qui n'ont pas subi l'influence du spermatozoïde, ne peuvent présenter ce double phénomène.

Les vues de ZIEGLER ne sont pas à l'abri de toute critique.

D'abord, le centrosome ovulaire n'existe pas; le centrosome spermatique n'existe pas d'avantage. Ils n'ont donc rien à faire dans la segmentation. Les corpuscules existent seulement dans les deux pronuclei. Or, ceux qui se trouvent dans le noyau femelle ne sont nullement dégradés; ils sont sains et tout prêts à entrer en fonction, aussi bien que ceux du noyau mâle. Il n'y a aucune différence entre les corpuscules des noyaux sexuels au point de vue de l'activité cinétique. Ainsi, si le fragment muni du noyau ovulaire ne se segmente pas, ne donne pas de blastula, comme le fait le fragment à noyau spermatique, ce ne peut être à cause de son centrosome. Ensuite, rien ne nous autorise à admettre que la présence du corps spermatique détermine une excitation cinétique particulière dans le pronucleus femelle.

L'explication donnée par ZIEGLER ne nous paraît donc pas acceptable.

Suivant notre manière de voir, il faut chercher avant tout la raison de cette différence dans le fait que le cytoplasme qui accompagne le spermatozoïde est mieux fécondé que celui qui accompagne le noyau femelle.

Nous avons vu que, chez l'*Ascaris*, les substances nucléoalbumineuses provenant du corps spermatique, lesquelles déterminent une pullulation et un changement de structure dans le cytoplasme ovulaire, ne se répandent que peu à peu dans l'œuf. Il en résulte que, peu de temps après la pénétration du spermatozoïde, la zone qui l'entoure immédiatement renferme la majeure partie, sinon la totalité de ces substances, et cette zone est la seule portion du cytoplasme dont la structure soit déjà

Jusqu'à preuve de contraire, on doit donc admettre que la présence des deux noyaux est indispensable pour que la segmentation puisse aboutir à la production d'un être complet.

4° Le centrosome spermatique se maintiendrait à travers toutes les cinèses; il serait un organe permanent du cytoplasme.

C'est encore une erreur. Ce centrosome n'existe pas, il ne peut donc se maintenir. En supposant même qu'il existât, il ne persisterait pas davantage. Nous avons vu, en effet, que les corpuscules s'évanouissent après la première cinèse. A chaque segmentation, il s'en forme de nouveaux dans le noyau pour remplacer les anciens. Bien loin d'être permanents, ils ne servent qu'une fois; ce sont des organes transitoires de division, transitoires au même titre que les asters et le fuseau. Sous ce rapport encore, la théorie de BOVERI est aussi opposée aux faits que possible.

II. Conditions de la segmentation.

Laissons donc de côté cette théorie, et demandons-nous à notre tour : que manque-t-il à l'œuf pour qu'il puisse se développer en un individu nouveau? En d'autres termes, qu'elles sont les conditions de la fécondation?

1° D'abord il faudrait rechercher si l'émission des globules n'enlève pas à l'œuf un élément nécessaire à son développement, élément qu'il s'agirait de remplacer avant tout.

L'un de nous a montré, il y a longtemps déjà, que les globules polaires avaient pour effet d'éliminer les trois quarts de l'élément nucléinien, quant à la *quantité*, mais non par rapport au *nombre* de ses chromosomes. La double division qui donne les quatre spermatides produit le même résultat; chacune de celles-ci possède, en quantité, un quart de l'élément nucléinien de la cellule-mère. Au début, les noyaux sexuels ont à eux deux la

modifiée sensiblement. Qu'on vienne à fragmenter l'œuf à ce moment, — et c'est ainsi que l'on procède dans ces sortes d'expériences, — il est évident que c'est le fragment qui renferme le spermatozoïde qui a tous les avantages; il est plus remanié et mieux nourri. Dans ces conditions, quoi d'étonnant à ce qu'il soit plus actif, qu'il réponde avec plus d'efficacité à l'action du corpuscule émigrant du noyau? On conçoit qu'il puisse non seulement s'entourer d'une membrane et produire des asters, comme le fait le fragment à noyau femelle, mais encore parvenir à se segmenter à la fin de la caryocinèse et à former une blastula, ce dont l'autre fragment paraît être incapable.

Nous pourrions aussi faire remarquer que le pronucleus spermatique se trouve dans les conditions les plus favorables à son développement. Car il est plongé dans un cytoplasme riche en composés nucléo-albumineux, très voisins des nucléines et des plastines du noyau; tandis que le pronucleus femelle vit dans un milieu relativement pauvre. De ce chef encore, le fragment qui possède le spermatozoïde est le mieux partagé et son activité cinétique doit s'en ressentir.

moitié en quantité de l'élément normal. Ensemble ils représentent, comme le dit fort bien JULIN, l'élément nucléinien d'une couronne polaire à la fin d'une cinèse ordinaire; cette couronne renferme en effet la moitié en poids de l'élément nucléinien de la cellule avant sa division.

On peut admettre, comme on le fait d'ailleurs, que pendant le repos qui suit la division, les couronnes polaires, ou les nouveaux noyaux doublent leur quantité de nucléine. S'il en est de même pour les noyaux sexuels pendant leur développement au sein de l'œuf, d'un quart ils montent à un demi, et les deux en s'unissant lors de la segmentation représentent la totalité de l'élément nucléinien de l'ovocyte ou, plus généralement, des cellules ordinaires de l'espèce considérée.

D'un autre côté, on tend à admettre aussi aujourd'hui que les œufs parthénogénétiques n'émettent qu'un globule, ou du moins ne perdent que la moitié de leur élément nucléinien, et ce serait pour cette raison précisément qu'ils sont encore aptes à se développer. En se doublant avant la segmentation, cette moitié devient équivalente à la totalité de l'élément renfermé primitivement dans l'ovocyte.

S'il en est ainsi, on peut penser que l'œuf qui a subi deux divisions polaires immédiates devient trop pauvre en nucléine pour pouvoir réparer ses pertes. Le spermatozoïde viendrait justement combler le déficit.

D'où l'on pourrait conclure :

a° Première condition du développement. La présence du noyau spermatique est indispensable, car il doit apporter la moitié de l'élément nucléinien nécessaire à la segmentation normale.

Cette première condition peut être regardée comme indispensable. Mais, pour en démontrer la nécessité absolue, il faudrait prouver que le quart qui reste dans l'œuf *ne peut* par son développement récupérer les 3/4 perdus. C'est là le point faible de l'argumentation.

2°. Les observations que nous avons faites sur la segmentation de *Ascaris megalocephala* nous ont révélé, entre autres, les faits suivants.

La segmentation n'est pas l'œuvre d'un centrosome unique, mais de deux centrosomes différents et étrangers l'un à l'autre. En effet, ces corpuscules naissent séparément dans chacun des noyaux sexuels et y demeurent enfermés jusqu'à la première division. Ils sortent alors et viennent se placer chacun à un pôle de la figure.

La segmentation est donc leur œuvre commune.

Il suit de là, que chacun des deux noyaux sexuels y concourt également, et que, en dernière analyse, les deux cellules, mâle et femelle, interviennent dans cet acte éminemment important.

En outre, si nous ne nous trompons, chez l'*Ascaris univalens*, les deux nouveaux corpuscules destinés aux segmentations suivantes, tirent leur origine l'un d'un segment paternel, l'autre d'un segment maternel, ou bien ils sont de nature mixte. Si cette observation venait à se généraliser par l'étude d'autres animaux, il deviendrait extrêmement probable que la segmentation ne peut se faire sans le concours du corpuscule émis par le noyau mâle. Ainsi :

b) Deuxième condition du développement. La présence du noyau spermatique est indispensable parce qu'il doit, aussi bien que le noyau de l'œuf, fournir un corpuscule au fuseau de division.

Cette condition est-elle d'une absolue nécessité, le noyau ovulaire ne pourrait-il fournir les deux corpuscules? Peut être. Mais il faudrait le prouver (1).

3° Ces deux conditions suffisent-elles? L'influence du spermatozoïde ne doit-elle pas se faire sentir également sur le cytoplasme de l'œuf, pour qu'il se mette en mouvement sous l'influence des corpuscules polaires?

Il est certain que chez l'*Ascaris* le cytoplasme ovulaire est retravaillé, remanié entièrement par le concours et sous l'influence du corps spermatique; sa structure organique et sa constitution chimique sont changées ou modifiées. Les auteurs qui ont étudié la fécondation chez les animaux les

(1) Lorsqu'il y a plusieurs corpuscules dans les noyaux sexuels, on ne saurait dire si ceux qui sont aux pôles de la figure proviennent de deux noyaux ou d'un noyau unique. Considérons, par exemple, un cas qui se présente assez fréquemment, celui où l'un des noyaux renferme encore un corpuscule lorsqu'on en trouve déjà deux dans le cytoplasme. Ceux-ci peuvent provenir des deux noyaux : il en reste alors un dans celui qui en avait deux; ou bien ils proviennent tous deux du noyau qui n'en a plus, l'autre noyau ayant conservé l'unique qu'il possédait. Si l'observateur n'avait que des cas semblables pour asseoir son jugement, il resterait nécessairement dans le doute. Il pourrait supposer que les deux corpuscules de la figure proviennent indifféremment tantôt du noyau mâle, tantôt du noyau femelle, tantôt des deux à la fois. Il n'en est plus de même dans le cas normal, celui où chaque pronucleus ne renferme qu'un seul corpuscule. L'observation prouve qu'ils servent tous deux.

Nous venons de voir, p. 165, qu'un fragment d'œuf avec le pronucleus femelle peut donner une figure, et qu'un fragment renfermant le pronucleus mâle est capable de produire une blastula. Dans ces deux cas, ce sont les centrosomes d'un seul noyau qui fonctionnent, c'est é ilent. Il faut en conclure que les corpuscules du noyau mâle sont capables de produire la segmentation. Cette segmentation est-elle normale? Suffirait-elle à produire un nouvel individu normal, en supposant que toutes les autres conditions requises soient remplies? Nous n'en savons rien pour le moment. On peut croire que non jusqu'à preuve du contraire.

plus divers, sont unanimes à signaler dans l'œuf des irradiations semblables à celles que nous avons décrites chez l'*Ascaris*, et qui ont pour point de départ le *Mittelstück* ou, d'une manière plus générale, le corps du spermatozoïde. On peut donc admettre sans témérité que c'est là un fait général. Or, un phénomène qui revêt ce caractère de généralité dans un acte aussi important que la fécondation, doit avoir une haute portée, une signification biologique considérable. C'est ainsi que l'ont compris tous les savants. Ils en font tous un « archoplasme ». Celui-ci, en effet, d'après les auteurs récents, provient du spermatozoïde et non du cytoplasme, comme le prétendaient BOVERI et VAN BENEDEN. « L'archoplasme », dit WILSON (1), « dérive entièrement du spermatozoïde, ou est formé sous l'influence d'une substance qui en provient, et qui est située à l'intérieur ou au voisinage du *Mittelstück* ». Pour certains observateurs, en effet, la masse qui s'irradie est une portion du corps spermatique : nous dirions que c'est une portion réticulée de ce corps qui, en arrivant dans l'œuf, se transforme en rayons astériens; ceux-ci seraient donc de nature spermatique, au même titre que ceux que nous avons décrits chez l'*Ascaris*. Pour d'autres, ces rayons appartiennent au cytoplasme ovulaire, mais ils se forment grâce à l'action d'une substance qui s'échappe du spermatozoïde : nous dirions que l'enchyème nucléo albuminifère du corps spermatique, en se dissolvant dans le cytoplasme, agit sur son réseau et y produit des irradiations.

Or, pour la plupart des auteurs, ce corps irradié renferme un centrosome d'origine spermatique. Il se porte vers les noyaux sexuels, et bientôt la division du centrosome entraîne sa séparation en deux parties : les sphères de division, qu'on retrouvera avec leur centrosome aux pôles du premier fuseau de segmentation.

On voit par cet exposé que les auteurs font jouer aux irradiations dont nous parlons un rôle important; celui de produire la segmentation en fournissant à l'œuf les corpuscules et les sphères.

Nous savons que ce n'est pas ainsi qu'il faut envisager les choses. Elles se passent tout autrement. Ces masses irradiées n'ont pas de centrosomes, et n'ont rien de commun avec les sphères de division. Elles se perdent dans le cytoplasme ovulaire, en modifiant sa structure et sa composition chimique.

De tous les auteurs qui ont parlé de ces irradiations, c'est KOSTANECKI qui s'est le plus approché de la vérité, en ce sens, du moins, qu'il a observé

(1) WILSON : *On fertilisation etc. of the egg in Toxopneustes lividus* : New-York Acad. of Sci., Biolog. Sect. — Anat. Anz., X, 8, 1894, p. 272.

leur effacement graduel et leur disparition dans le cytoplasme, tout en interprétant fort mal, d'ailleurs, l'ensemble des phénomènes. Voici ce qu'il dit en substance dans une note (1), à propos des *Physa*. - Chez la *Physa fontinalis*, la radiation spermatique se divise très tôt en deux parties et - les deux nouvelles sphères atteignent sans tarder leur endroit prédestiné, - le plan de copulation. Alors commence un long stade où les pronuclei - croissent jusqu'à devenir de grosses vésicules. Pendant ce temps, les - deux systèmes de rayons groupés autour des deux centres disparaissent. - Ils traversaient auparavant tout le corps de la cellule; il n'est plus - possible maintenant que d'en retrouver de maigres restes, des traces - imperceptibles, et cela seulement sur des préparations très réussies et - particulièrement bien colorées. Dans ces préparations, les centrosomes, - qui étaient auparavant très gros, ne subsistent plus qu'à l'état de petits - granules. C'est seulement lorsque les noyaux sont arrivés *au stade de* - *peloton* que le rayonnement réapparaît puissant. -

KOSTANECKI a donc constaté la disparition, on peut dire complète, des radiations spermatiques. C'est ainsi en effet que les choses se passent. Mais il a eu le grand tort d'ajouter que ces radiations réapparaissent *au stade peloton*. En effet, ce ne sont pas ces radiations qui réapparaissent alors. Au stade *peloton*, les centrosomes sortent des noyaux sexuels et déterminent dans le cytoplasme la formation de nouvelles radiations, celles des asters proprement dits, qui n'ont aucun lien génétique avec les anciennes radiations, disparues pour toujours.

KOSTANECKI a prétendument observé la division de l'archoplasme pendant sa marche vers les noyaux. En réalité, c'est la masse échappée du spermatozoïde qui s'est fragmentée en route et a donné naissance à deux centres de rayonnement. Nous avons montré que le corps central du spermatozoïde de l'*Ascaris* présentait souvent une fragmentation semblable.

Au moment où l'irradiation primitive disparaissait près des noyaux, KOSTANECKI a observé que les centrosomes, jusque là volumineux, se réduisaient à l'état de granules. L'auteur ici a assisté à la fin de la résolution de l'enchylème nucléo-albuminifère des sphérules échappées des spermatozoïdes, et il a pris ces sphérules elles-mêmes pour des centrosomes. Elles n'en ont que l'apparence (2).

(1) KOSTANECKI und SIEDLECKI : *Ueber das Verhalten der Centrosomen zum Protoplasma*: p. 188, 189.

(2) C'est ainsi également que nous avons interprété, au Congrès des anatomistes à Gand, les préparations de notre ami VAN DER STRICHT, montrant le quadrille des centres chez le *Thysanozoon*.

Le rôle que les irradiations spermatiques sont appelées à jouer, n'est donc pas tel que les auteurs l'ont conçu. Si elles servent à la segmentation, ce n'est pas en fournissant les centrosomes et les sphères de division, mais par leur incorporation définitive dans la masse ovulaire. On peut admettre, en effet, que le cytoplasme ovulaire, avant d'avoir subi l'action du cytoplasme spermatique, est incapable de répondre à l'action des centrosomes échappés des noyaux, incapable de se mettre en mouvement en vue de la division. D'où :

c) Troisième condition du développement : Le cytoplasme ovulaire doit être soumis à l'influence du cytoplasme spermatique pour pouvoir entrer en activité.

On pourrait penser que les modifications introduites dans le protoplasme ovulaire par le corps spermatique ont plutôt un rôle à jouer dans l'hérédité, c'est-à-dire dans la transmission des caractères paternels. Nous croyons ce rôle réel, mais nous croyons aussi que la transformation du cytoplasme ovulaire est indispensable à la segmentation; l'un n'empêche pas l'autre.

En résumé, il manquerait à l'œuf pour qu'il puisse effectuer son développement normal et produise un nouvel individu :

1° La moitié en poids de l'élément nucléinien d'une cellule ordinaire ou somatique de l'espèce considérée;

2° Un centrosome spermatique, fourni par le noyau mâle;

3° Une portion de protoplasme spermatique ou, au moins, une ou plusieurs substances chimiques, destinées à remanier le protoplasme ovulaire et à le mettre en activité.

Les deux premiers éléments sont apportés par le noyau du spermatozoïde, le troisième par son cytoplasme.

Il n'y a là, selon nous, que des irradiations produites par des fragments du *Mittelstück*, irradiations qui disparaîtront avant la segmentation.

Nous recevons de l'auteur, pendant la correction de cette feuille, le travail de MAC FARLAND sur la fécondation de certains mollusques (*Cellular Studies on Molluscan Eggs*). L'auteur a constaté dans les œufs de *Pleurophyllidia californica* la disparition précoce des radiations provenant du spermatozoïde. Il admet, comme KOSTANEKI, qu'elles réapparaissent avec leur centrosome au moment de la segmentation. Les remarques que nous avons faites au sujet des *Physa* s'appliquent exactement au mollusque étudié par MAC FARLAND.

Nous nous demandons aussi jusqu'à quel point on est autorisé à affirmer qu'un corps qui s'est évanoui réapparaît ensuite comme tel, parce qu'on voit surgir un corps semblable dans l'œuf au moment de la cinèse. Les deux sphères soi-disant réapparues de la fig. 10 de MAC FARLAND ne sont, selon nous, que les deux nucléoles, très bien représentés par lui dans ses figures précédentes au sein du noyau, qui viennent d'émigrer dans le cytoplasme pour produire la figure.

C'est ainsi que la cellule-œuf se complète et se féconde. En définitive, *la fécondation est l'union de deux cellules noyau à noyau, protoplasme à protoplasme, en une individualité nouvelle et capable de développement* (1).

III. *Primum movens de la segmentation.*

Nous pouvons nous poser maintenant une dernière question.

Quel est celui des éléments de l'œuf fécondé qui est le *primum movens* de la segmentation, celui qui entre le premier en activité et qui détermine les autres à le suivre?

Pour VAN BENEDEN, BOVERI et leurs nombreux partisans, ce sont les sphères attractives ou archoplasmiques qui non seulement donnent le signal de la division, mais qui sont seules actives dans le phénomène. Ce sont elles, en effet, qui font tout : elles produisent l'aster, le fuseau, elles ramènent les bâtonnets vers les pôles; le restant du protoplasme, dit BOVERI, est passif et subit l'étranglement final qui achève la segmentation. Le noyau l'est tout autant : il ne se divise pas, ajoute BOVERI, il est divisé. Pour ces auteurs, c'est donc une portion différenciée du *cytoplasme* qui est l'agent actif unique de la division; le noyau n'y est pour rien, il se laisse faire.

Ces idées ne sont pas nouvelles. Elles ne sont au fond qu'une réminiscence habillée de neuf du kinoplasme de STRASBURGER, et STRASBURGER lui-même n'avait fait que spécifier davantage l'opinion généralement reçue alors, que l'impulsion à la division émanait du cytoplasme.

Nous avons toujours combattu cette opinion. Déjà en 1885, la *Cytodièrese* (2) revendiquait ce privilège pour le noyau : c'est lui qui entre le premier en activité, c'est lui qui forme le fuseau, et c'est sous son influence directe que le cytoplasme entre en mouvement pour former les asters; il élabore lui-même la plaque fusoriale; le cytoplasme intervient seulement pour former la plaque complétive. Les rôles, selon nous, étaient donc renversés; le noyau était le *primum movens* et le principal agent de la division cellulaire.

Mais ces vues ne pouvaient prévaloir. L'engouement que suscitèrent bientôt les sphères attractives ferma les yeux ou les dirigea d'un autre côté. Il fallut attendre jusqu'à la publication du travail de DEMOOR (3). Les ex-

(1) Nous arrivons donc aux mêmes résultats qu'en 1880. Voir plus haut, à la p. 83, la citation que nous avons rapportée.

(2) *La Cytodièrese*; pp. 340, 365, etc.

(3) DEMOOR : *Contribution à l'étude de la phys. de la Cellule*; Arch. Biol., XIII, 1894.

périences de se savant, confirmées par d'autres plus récentes, rappelèrent heureusement l'attention sur elles (1). Néanmoins, le rôle du noyau est toujours relégué à l'arrière plan par les auteurs modernes.

Bien à tort, cependant. Car, les phénomènes que nous avons décrits chez les *Ascaris* montrent à toute évidence que le noyau joue un rôle prépondérant dans la segmentation; il en est l'initiateur et le facteur principal, sinon exclusif. Il suffit pour le prouver de rappeler les faits que nous connaissons. C'est le noyau qui forme le corpuscule de division. Or, c'est ce corpuscule qui met toute la cellule en mouvement. A peine sorti de sa demeure, il devient le centre d'une double irradiation : l'une qui a son siège dans le cytoplasme, et qui produit l'aster; l'autre qui se manifeste dans le caryoplasme et qui produit le fuseau. Ensuite les phénomènes qui se passent dans le fuseau pendant toute la cinèse doivent aussi lui être attribués : tels sont la formation de la couronne équatoriale, sa dislocation, le retour des deux bâtonnets vers les pôles. Nous avons vu en effet que le noyau, sous la forme de fuseau, conserve toute son autonomie au sein de la figure; jamais les filaments des asters ne s'y mêlent, ni ne viennent s'attacher aux bâtonnets pour les remorquer vers les pôles. S'il y a des filaments à ce destinés, ce sont des filaments du fuseau, qui appartiennent au noyau, par conséquent. Enfin, le fuseau forme lui-même la portion de la plaque cellulaire qui lui correspond, la plaque fusoriale; le cytoplasme n'intervient que pour la portion qui le concerne, la plaque complétive. Les expériences de DEMOOR ont mis ce dernier fait en toute évidence. La segmentation est donc bien l'œuvre du noyau.

Parmi les éléments du noyau, ce sont évidemment les corpuscules qui sont le *primum morens* et les facteurs immédiats de la segmentation; ils sont éminemment des *organites de division*.

§ 2.

Hérédité.

Après avoir analysé les phénomènes de la fécondation, il ne nous reste plus qu'à dire un mot de l'*hérédité*.

L'observation la plus superficielle suffit à montrer que le nouvel être résultant de la fécondation n'est pas un individu *quelconque*; il ressemble

(1) Voir notre publication récente : *La résic. germ., etc. chez les Batraciens*; La Cellule, t. XII, p. 202.

toujours d'une manière frappante aux parents qui lui ont donné naissance, et, le plus souvent, autant à l'un qu'à l'autre. On appelle hérédité la faculté que possèdent les œufs fécondés de produire un être semblable à ses parents, à part certaines propriétés individuelles qui lui sont propres. On désigne sous le nom d'héréditaires les propriétés qui sont ainsi transmissibles des parents aux descendants par la génération.

Or, on s'est demandé quel est, dans l'œuf fécondé, le substratum matériel de ces caractères. Est-ce le protoplasme; est-ce le noyau ou les deux à la fois?

La réponse à cette question constitue ce que l'on a appelé la théorie de l'hérédité.

Voici, esquissée à grands traits, d'après l'exposé de BOVERI⁽¹⁾, la théorie qui jouit de la faveur générale.

1° Ainsi que NEGELI l'a établi, le substratum des propriétés héréditaires ne peut être un corps chimique; il faut nécessairement qu'il soit organisé. Sans cela, on ne comprendrait pas comment il peut diriger le développement de façon à produire un être en tout semblable aux parents, souvent jusque dans les moindres détails.

2° Il est bien établi que le père et la mère ou, en d'autres termes, l'œuf et le spermatozoïde ont une part égale dans l'hérédité. Le rejeton ressemble autant à l'un qu'à l'autre parent; de même les hybrides tiennent le milieu par leurs caractères entre les espèces qui leur ont donné naissance. Le substratum organisé doit donc avoir la même masse approximative et être de même nature, ou de même structure dans l'œuf et dans le spermatozoïde.

3° Mais, comme le protoplasme du spermatozoïde est tellement réduit qu'il est souvent à peine décelable et que, d'ailleurs, il est différencié au plus haut degré et très différent de celui de l'œuf, on s'est tourné du côté du noyau.

4° Et, en effet, en étudiant les phénomènes de la fécondation on trouve que le noyau présente tous les caractères requis pour devenir le substratum cherché.

a) Les noyaux mâle et femelle sont toujours sensiblement égaux et ont la même structure, au moment où ils se rencontrent au centre de l'œuf pour se fusionner.

b) En outre, ils renferment le même nombre de chromosomes, et

(1) BOVERI, dans *Ergebnisse*, l. c.

ceux-ci sont identiques dans leur aspect, leur volume et jusque dans leurs propriétés chimiques.

c) Enfin, après la division longitudinale équatoriale, la moitié de chacun d'eux se retire vers les pôles; les deux nouveaux noyaux ont donc aussi le même nombre de chromosomes mâles et femelles. Et ainsi dans les segmentations suivantes.

Les noyaux, et surtout leurs chromosomes, présentent donc tous les caractères requis pour le substratum des propriétés héréditaires et leur transmission aux descendants; tandis que les autres éléments de la cellule ne jouissent pas de ces caractères. En résumé, ce sont les chromosomes seuls qui sont porteurs de l'hérédité.

Cette théorie est-elle fondée?

Examinons la point par point.

1^o Nous admettons volontiers qu'il faut nécessairement un corps organisé pour diriger le développement de façon à produire un être semblable aux parents. Ce corps organisé, c'est l'œuf. Mais s'en suit-il que les substances chimiques ne peuvent pas intervenir dans la transmission des propriétés au rejeton? En aucune façon. Car on conçoit très bien que ces substances puissent déterminer par leur action une modification, même profonde, dans la structure de l'élément organisé, modification qui se traduira par des caractères particuliers chez les descendants. Les exemples ne manquent pas pour appuyer cette assertion. Tels les hybrides de greffe, en particulier ceux de DANIEL et de LEFORT.

L'hybride de DANIEL (1) a été obtenu en greffant le *Sisymbrium alliaria* sur le chou cultivé. Le greffon fleurit et mûrit ses graines. Or, celles-ci ayant été semées donnèrent naissance à des plantes mixtes, rappelant les deux espèces par leurs caractères. Elles avaient du sujet le port trapu, les feuilles larges et crépues, les tiges et tous les organes végétatifs de consistance charnue; tandis que l'appareil florifère rappelait celui du greffon.

ÉDOUARD LEFORT (2) a produit récemment une variété remarquable en greffant la pomme de terre *imperator* sur *marjolin*. Elle tient du greffon par sa grande production, la forme arrondie et la couleur rouge de ses tubercules; le sujet lui a communiqué la précocité, des fanes courtes et une chair bien jaune.

Ce résultat n'est pas resté isolé. LEFORT est parvenu par le greffage à

(1) DANIEL : *Sur quelques applications de la greffe herbacée*; Rev. génér. de bot., t. VI, 1894, p. 356.

(2) E. LEFORT : *Journal de la Société nationale d'horticulture de France*, Supplément, 1896.

rendre les pommes de terre industrielles, comestibles, sans qu'elles cessent de donner un grand rendement, et aussi de les rendre plus précoces lorsqu'on les greffe sur marjolin.

Ces faits d'hybridation par la greffe sont des plus intéressants, car ils montrent à toute évidence l'influence considérable que les substances chimiques peuvent exercer sur la structure cellulaire, et par suite sur celle des organes. On ne conçoit pas, en effet, comment le sujet pourrait influencer le greffon autrement qu'en lui fournissant par osmose divers principes chimiques. Il n'y a pas, par exemple, de rapport organique possible entre le sujet et les graines dans l'hybride de DANIEL.

Dans un article remarquable, GAUTIER (1) a mis en relief récemment l'action qu'exercent les substances chimiques sur l'organisation cellulaire. D'après lui, la transmission des principes chimiques originaires des cellules génératrices modifient la structure élémentaire du protoplasme et, par suite, l'être tout entier jusque dans ses formes extérieures. La variation des races, dit-il encore, n'est pas seulement anatomique, mais chimique; elle commence avec les principes transmis par la génération, et l'introduction de ces principes peut créer des races nouvelles.

Ainsi, les substances chimiques du spermatozoïde pourraient agir, à défaut même d'élément organisé, sur le cytoplasme ovulaire, pour lui faire prendre une tout autre structure et lui imprimer le cachet paternel; en un mot, en faire un être mixte.

2° On dit : puisque l'œuf et le spermatozoïde ont une part égale dans l'hérédité, le substratum organisé doit avoir la même masse et être de même nature dans chacun d'eux.

Cette seconde assertion n'est pas justifiée. Car, s'il est vrai qu'une minime quantité de substance chimique peut produire les hybrides de greffe, il doit en être de même, à plus forte raison, d'une masse organisée, si petite qu'on la suppose; elle pourra bien plus aisément encore produire un être à caractères mixtes.

Quant à l'identité de nature qu'on réclame, nous avouons n'y rien comprendre. Pourquoi le substratum des propriétés paternelles devrait-il avoir la même nature ou structure que le substratum des propriétés maternelles? On croirait plutôt le contraire, c'est-à-dire qu'ils doivent être de nature différente, puisqu'ils sont destinés à transmettre des caractères différents.

3° Or, s'il en est ainsi, comment, de ce que le cytoplasme spermatique

(1) GAUTIER : *Le mécanisme de la variation des races*; Revue scient., 1897, n° 6, p. 161.

est réduit et très différent de celui de l'œuf, pourrait-on conclure qu'il n'est pas apte à transmettre les propriétés paternelles?

4° Quant à la dernière assertion, les chromosomes présentent seuls les caractères demandés : les paternels et les maternels sont égaux en nombre, en volume et ont la même nature chimique, elle n'est pas fondée davantage.

Supposons, pour un instant, que la corrélation entre l'égalité en masse et en nature du substratum et la transmission des propriétés héréditaires soit établie. Que faudrait-il en conclure? Que les chromosomes sont seuls porteurs de l'hérédité? Assurément non. En effet, les caryoplasmes des deux noyaux sexuels sont égaux et apparemment de même nature; les corpuscules polaires mâles et femelles sont aussi égaux et, sans doute, de même nature; enfin le cytoplasme est devenu à la fois et également paternel et maternel dans toutes ses parties. Il en résulte que tous ces éléments possèdent, au même titre que les chromosomes, les caractères requis pour devenir le substratum des propriétés héréditaires. D'où il faudrait conclure, qu'ils transmettent ces propriétés aussi bien que l'élément nucléinien.

Mais alors! Que devient le privilège singulier attribué aux chromosomes? Que devient la théorie elle-même?

Les auteurs ont été amenés à formuler cette théorie, ou à y adhérer, parce qu'ils ont méconnu la réalité. Pour eux, le protoplasme de l'œuf fécondé n'est que le protoplasme de l'ovocyte, sans plus; le spermatozoïde y reste étranger. Ensuite le corpuscule de segmentation dérive du corps spermatique, l'œuf en est dépourvu. Quant au caryoplasme, ils en ont fait une goutte d'eau. Dans ces conditions, on ne pouvait regarder ces divers éléments comme capables de transmettre à la fois les caractères paternels et maternels.

Restait l'élément nucléinien, le seul organisé du noyau, d'après eux, et, d'après eux aussi, le seul qui fût commun aux deux cellules sexuelles. Il fallait donc bien y recourir pour tenter une explication de l'hérédité. On a fait de nécessité, théorie.

Cette théorie n'est qu'un ensemble de faux supposés, démentis par les faits. Les phénomènes qui se passent durant la fécondation chez les *Ascaris* le prouvent à suffisance.

A partir de l'expulsion des globules polaires, l'œuf subit, grâce à l'introduction du spermatozoïde, des modifications profondes dans toutes ses parties. D'abord son protoplasme est transformé. Il s'imprègne du proto-

plasme spermatique en absorbant tous ses éléments organiques et chimiques. Le corps ovulaire primitif, œuvre de la mère, devient ainsi également l'œuvre du père; celui-ci lui imprime son cachet. Ensuite, le noyau de l'œuf n'est plus seul; il est doublé du noyau spermatique. Désormais il sera mi-paternel et mi-maternel dans tous ses éléments : chromosomes, caryoplasme, corpuscules polaires, et exactement dans les mêmes proportions. C'est ainsi que l'œuf devient une entité nouvelle. Les deux cellules qui ont contribué à sa formation ont perdu leur individualité propre, en se fusionnant, élément par élément, en une individualité unique. Celle-ci est nécessairement de nature mixte, aussi mixte que possible, dans tous ses éléments constitutants.

Dès lors, quoi d'étonnant à ce que cette entité nouvelle donne naissance à un produit tenant, à la fois et pour part égale, du père et de la mère par tous ses caractères?

Car ses éléments : cytoplasme, caryoplasme, corpuscules, chromosomes, fonctionnent tous en même temps et comme êtres mixtes, non seulement pendant la première segmentation, mais pendant les cinèses suivantes et toute la durée du développement. Nous avons vu, en effet, que les corpuscules nouveaux continuaient à être mixtes, et que l'élément nucléinien le devenait plus encore après la première cinèse, puisque les anses issues de la fusion des groupes binaires possédaient une moitié paternelle et une moitié maternelle.

Il en est de même des associations qu'elles forment : tissus et organes, et, par conséquent du descendant tout entier. Est-il surprenant que celui-ci révèle à la fois les caractères du père et de la mère? Il ne saurait en être autrement.

En résumé :

1° *L'œuf fécondé transmet également les caractères paternels et maternels, parce qu'il est également mixte dans tous ses éléments*, et non dans ses chromosomes seulement, comme on l'a admis jusqu'à présent.

2° *Le substratum des propriétés héréditaires, c'est l'œuf tout entier, c'est-à-dire son protoplasme aussi bien que son noyau*. Et cela, parce qu'il est à la fois paternel et maternel, autant dans l'une que dans l'autre de ses deux parties constitutives.

Nous nous garderons bien de pénétrer plus avant dans les profondeurs de l'hérédité, le plus grand problème de la vie, qui n'est elle-même qu'une longue chaîne de phénomènes mystérieux et inexplicables. Nous ne savons

ce qu'est la vie, et nous ne le saurons de longtemps. Que dire de la prétention du savant qui voudrait scruter les secrets de sa transmission, les secrets, surtout, de cette double vie qui se manifeste dans l'œuf fécondé et qui aboutit à la naissance d'un descendant, à la fois simple et double : simple, parce qu'il a une individualité propre; double, parce qu'il résume en lui les caractères de deux êtres, qu'il est la copie de son père et de sa mère?

Ce serait folie!

Sachons avouer notre ignorance profonde et nous arrêter à la limite de notre modeste savoir. Vouloir aller au-delà, c'est s'aventurer dans le domaine ténébreux de l'hypothèse et des théories fantaisistes. C'est dangereux pour la science. Car la manie de l'hypothèse tue l'observation autant que l'idée préconçue; ce sont là les deux plus grands ennemis des sciences positives. Elles ont, en outre, le grave inconvénient de fausser l'esprit des jeunes générations qui s'imaginent aisément que, pour faire de la haute science, au goût du jour, il faut planer dans les nuages et dédaigner la terre!

Arrière les théories! clamait CUVIER aux faiseurs d'hypothèses de son temps : des faits, encore des faits, toujours des faits!

CONCLUSIONS.

Résumons, sous la forme de conclusions, les principaux résultats de cette étude. Les plus importantes ont été lues le 26 avril au *Congrès des anatomistes*, tenu à Gand, cette année.

1° A la dernière division des ovogonies, le corpuscule disparaît, comme après toute division; l'ovocyte ne renferme donc aucun centrosome dans son cytoplasme. Il est sous ce rapport comparable à toute cellule ordinaire à l'état quiescent. C'est donc bien à tort que BOVERI voudrait voir dans cette absence un caractère distinctif de l'ovocyte.

2° Celui-ci n'est d'ailleurs jamais dépourvu de corpuscules. Car, il s'en forme aussitôt de nouveaux dans le jeune noyau, et ils y restent jusqu'à la formation des globules polaires.

3° Ils servent alors de corpuscule de division dans la première figure; puis ils disparaissent, selon toute probabilité.

4° Nous croyons, en effet, qu'il s'en forme de nouveaux pour la figure du second globule.

5° Les deux figures polaires sont donc pourvues de corpuscules.

En outre, elles sont munies d'asters.

De ce double chef, elles sont des cinèses ordinaires.

6° Les corpuscules et les asters qui fonctionnent pendant les cinèses polaires s'évanouissent sans tarder; il en résulte qu'après l'expulsion du second globule il n'y a pas de corpuscule dans le cytoplasme ovulaire.

Il n'y a donc pas d'ovocentre.

7° L'archoplasme de BOVERI n'existe pas tel que cet auteur l'a conçu. Ce n'est pas, en effet, une simple portion différenciée du cytoplasme ordinaire. C'est une irradiation produite avec le concours et sous l'influence du corps du spermatozoïde. Il représente les irradiations décrites par les auteurs, qui s'échappent du *Mittelstück* chez d'autres animaux.

8° Contrairement à ce qu'on admet généralement, ces irradiations ne renferment pas de centrosome véritable; leur prétendu centrosome n'est qu'une sphérule d'enchylème nucléo-albuminifère du corps spermatique, laquelle se dissout dans l'œuf. *Il n'y a pas non plus de spermocentre.*

9° S'il en est ainsi, le quadrille des centres de FOL, de GUIGNARD, de BLANC, de CONKLIN, de VAN DER STRICHT, etc., est impossible.

10° Ces irradiations se répandent dans tout le cytoplasme ovulaire, à l'effet de le remanier, de modifier profondément sa structure et d'en faire une entité nouvelle de nature mixte.

Ainsi, elles ne produisent jamais les sphères archoplasmiques.

11° Jusques avant la segmentation, il n'y a ni centrosomes, ni sphères d'aucune sorte dans le cytoplasme ovulaire; rien que les deux noyaux sexuels.

D'où viennent donc les centrosomes et les prétendues sphères de segmentation?

12° Les corpuscules polaires qui doivent servir à la première segmentation naissent dans les noyaux sexuels, dès le début de leur développement, et ils y restent enfermés jusqu'au moment de la cinèse; c'est pourquoi il est impossible d'en rencontrer dans le cytoplasme auparavant. Ces corpuscules sont les nucléoles plasmatiques ou achromatiques de CARNOY, BOVERI, HERLA, KULTSCHITZKY.

13° Ils sortent du noyau au début de la division, au stade peloton de l'élément nucléinien.

14° *Il en sort un de chaque noyau sexuel*; d'où il faut conclure que le noyau femelle contribue autant que le noyau mâle à la segmentation et au développement subséquent. La segmentation est une œuvre commune ou mixte.

15° Ils entrent en activité aussitôt qu'ils arrivent dans le cytoplasme, en y déterminant la formation progressive de l'aster et de son auréole granuleuse centrale, c'est-à-dire de la prétendue sphère attractive. On voit que celle-ci ne peut exister avant la sortie des corpuscules.

16° C'est sous leur influence également que le reticulum caryoplasmique s'irradie de son côté pour former le fuseau; celui-ci est toujours d'origine nucléaire.

17° Après la cinèse, les corpuscules disparaissent totalement; ils ne se divisent pour former les corpuscules de la cinèse subséquente, ni ne rentrent dans le noyau, comme l'ont prétendu divers observateurs : HERTWIG, JULIN, ZIMMERMANN, KARSTEN, etc.

18° Les asters et leur auréole s'évanouissent en même temps; ils ne se divisent pas non plus en deux sphères destinées à la segmentation suivante.

Le fuseau central d'HERMANN ne peut donc exister.

19° Loin d'être des éléments permanents de la cellule, les corpuscules et les asters, ou sphères attractives et autres, sont des productions transitoires, au même titre que le fuseau.

20° Aussitôt après la cinèse, de nouveaux corpuscules naissent dans le noyau non encore reformé, au stade des couronnes polaires, aux dépens de l'élément nucléinien; ils n'en sortiront qu'au moment précis de la cinèse suivante.

21° On voit combien se sont égarés les nombreux observateurs qui se sont lancés à la poursuite des corpuscules et des sphères attractives dans les cellules au repos, si, ce qui est plus que probable, les choses se passent ailleurs comme chez l'*Ascaris*.

22° Il se forme finalement deux corpuscules dans chaque couronne. Chez l'*univalens*, l'un provient de l'anse paternelle, l'autre de l'anse maternelle. A la seconde cinèse, comme à la première, les corpuscules sont donc d'origine différente. Il en sera ainsi vraisemblablement aux cinèses suivantes.

23° Les anses des premières couronnes polaires se scindent transversalement en deux moitiés. Il en résulte que les nouveaux noyaux possèdent un nombre double de bâtonnets. Ceux-ci sont disposés par paire dans une protubérance du noyau, et chaque paire renferme un bâtonnet mâle et un bâtonnet femelle.

24° Pendant la période de repos qui suit, les bâtonnets de chaque

groupe binaire s'unissent, de telle sorte que les anses qui concourent à la seconde cinèse sont mixtes; tandis qu'à la première cinèse elles étaient exclusivement paternelles ou maternelles.


25° Contrairement à ce qu'ont soutenu VAN BENEDEN et BOVERI, lorsque le noyau se reconstitue, la nouvelle membrane enrobe comme caryoplasme une portion notable de protoplasme mixte.

26° Puisque le corpuscule est le *primum movens* de la formation des asters et du fuseau, il s'en suit que la division cellulaire est sous la dépendance du noyau qui le produit, et nullement sous la dépendance des prétendues sphères ou du cytoplasme : ainsi que l'ont proclamé bien haut beaucoup d'auteurs, pour qui le noyau est purement passif, suivant l'expression de BOVERI.

27° La théorie de la fécondation émise par ce savant ne peut plus se soutenir; elle pêche par la base et est contraire aux faits. Car le spermo-centre qui doit venir compléter l'œuf et le rendre apte au développement n'existe pas. S'il existait, il disparaîtrait à la première cinèse et ne pourrait se perpétuer par division répétée à travers toutes les cinèses suivantes.

28° La fécondation est un acte très compliqué et très intime. Il consiste dans la fusion de deux individualités d'origine différente en une entité nouvelle et de nature mixte. Mixte, non seulement dans ses chromosomes, comme le pensent les auteurs modernes, mais dans toutes ses parties : cytoplasme, caryoplasme, centrosomes, élément nucléinien, tout y est à la fois et dans les mêmes proportions paternel et maternel.

29° L'œuf fécondé transmet les propriétés héréditaires des deux parents, parce que ses éléments, à la fois d'origine paternelle et maternelle, fonctionnent tous en même temps comme être mixtes pendant la segmentation et toute la durée du développement.



EXPLICATIONS DES PLANCHES

La plupart des figures ont été dessinées à la chambre claire avec l'objectif apochromatique 1,30 ou 1,40 et l'oculaire compensateur 8.

PLANCHE I.

Ascaris megalocephala bivalens.

FIG. 1 et 2. Spermatozoïdes après leur entrée dans l'œuf, vus de côté. L'en-chylème a disparu de la couronne et de la partie périphérique; le réseau y est à nu. Au centre, le corps réfringent.

FIG. 3. Le réticulum s'est étendu; les sphérules noires qui courent sur le réseau proviennent de la digestion du corps central, qui diminue de volume.

FIG. 4. Spermatozoïde vu d'en haut. La tête, ou couronne, est vue de face et le noyau se projette sur le corps central. Le réseau de la couronne s'est développé davantage. Mêmes sphérules que dans la fig 3.

FIG. 5. Même vue de face. La couronne est à réseau très serré et sans sphérules; on a dessiné la bande périphérique du cytoplasme. On voit dans le noyau les deux bâtonnets nucléiniens.

FIG. 6. La couronne s'étend de plus en plus en formant des bras. Le corps réfringent a perdu son enchylème, à part quelques sphérules non encore dissoutes, et a conservé son réseau.

FIG. 7. Section optique d'un œuf entier. La plage de fusion : au centre, portion due au spermatozoïde avec quelques sphérules nucléo-albumineuses restantes; à l'extérieur, portion formée dans le cytoplasme; plus loin, jusqu'à la membrane, protoplasma vacuoleux non modifié et à réseau lâche. *Gross.* 1,30 X 6.

FIG. 8. Plage devenue uniforme. Le corps réfringent est désagrégé en un grand nombre de sphérules.

FIG. 9. Coupe optique de la plage, le corps réfringent étant vu de côté, c'est-à-dire suivant sa longueur. L'en-chylème n'est pas encore dissous à la partie inférieure de ce corps.

FIG. 10 Vésicule germinative à l'état de repos : caryoplasme réticulé; deux groupes de 4 bâtonnets; deux nucléoles ou futurs corpuscules.

FIG. 11. État de l'œuf pendant la première cinèse polaire. Plage de fusion avec ses deux parties, comme dans la FIG. 7. Le corps réfringent, vu en long, est encore représenté par deux sphérules non dissoutes : une en dessous du noyau, l'autre à la partie inférieure. En haut, la figure du premier globule, avec asters et corpuscules polaires.

FIG. 12. Second globule. Figure avec asters et corpuscules. La plage de fusion, presque uniforme, s'étend sur les cordons plasmatiques interposés aux vacuoles, et remplit tout l'œuf.

FIG. 13. La plage n'a pas encore envahi tout l'œuf. En haut, corps résiduel ; à droite, noyau mâle avec nucléoles naissants ; en bas, noyau femelle avec nucléoles dans le pont qui relie les deux bâtonnets.

FIG. 14. La transformation de la plage de fusion en réseau définitif ; mais elle n'est pas encore complète, à droite surtout. Deux corps résiduels. Deux corpuscules dans le noyau supérieur, quatre dans l'inférieur.

FIG. 15. Il n'y a plus qu'un reste de la plage, à droite. Quatre corpuscules dans chaque noyau. Corps résiduel accompagné d'une sphérule enchylématique.

FIG. 16. Réticulum définitif de l'œuf. Un corpuscule dans chaque pronucleus. À partir de cette figure, on remarquera le caryoplasme réticulé.

FIG. 17. *a)* Deux noyaux sexuels dans leur position naturelle. Quatre et trois corpuscules de dimension variable. — *b)* Item ; deux et trois corpuscules ; dans le noyau de droite, deux vont se fusionner.

FIG. 18. De même. Deux corpuscules dans chaque noyau.

FIG. 19. Noyau de conjugaison au début du stade peloton ; les nucléoles des deux groupes binaires vont se fusionner.

FIG. 20. Noyau de conjugaison au même stade, avec deux corpuscules. Corps résiduel.

FIG. 21. Noyau avec peloton plus avancé. Un corpuscule est sorti, et l'aster commence à se former.

FIG. 22. Stade plus avancé. Les deux corpuscules sont sortis l'un près de l'autre ; début des asters.

FIG. 23. Deux corpuscules en position de figure, avec asters naissants. Formation du fuseau dans le caryoplasme.

FIG. 24. Stade équatorial, à peu près. Fuseau achevé.

FIG. 25. Deux pronuclei accolés, chacun avec deux anses nucléiniennes et un corpuscule.

FIG. 26. De même. Un peloton dans chaque noyau. Le corpuscule est sorti du noyau de droite.

FIG. 27. Peloton débutant; le nucléole est sorti très tôt d'un noyau; il y en a deux dans l'autre.

FIG. 28. Deux anses encore très allongées dans chaque noyau. Les corpuscules sont sortis des deux noyaux, en position polaire.

FIG. 29. Peloton non encore scindé en deux anses. Corpuscules sortis en position de figure. Naissance du fuseau dans les deux noyaux accolés. L'auréole astérienne est très marquée.

FIG. 30. Le fuseau est formé; les anses ne sont pas encore en position équatoriale; auréole moins marquée que dans la figure précédente.

FIG. 31. Retour vers les pôles. Fuseau riche. Bâtonnets trapus. Asters développés; les granules de l'auréole se répandent sur tous les rayons. Les corpuscules existent encore.

FIG. 32. Retour vers les pôles. Fuseau moins fourni. Anses minces et très allongées qui se croisent en formant les couronnes. Asters et auréoles comme dans la figure précédente. Le corpuscule de gauche a disparu; celui de droite s'est aplati avec l'aster.

FIG. 33. Les noyaux sont reformés depuis quelque temps; on voit deux bâtonnets dans chacune des deux cornes sur les deux noyaux. Les asters et l'auréole ont presque disparu; le centrosome de gauche est réduit à l'état de granule ponctiforme.

FIG. 34. Les noyaux sont à un stade plus avancé. On y voit deux filaments dans les cornes, qui se sont allongés vers l'intérieur du noyau. Les auréoles sont encore très fournies, mais elles sont dépourvues de corpuscules anciens. Il y a deux et quatre corpuscules nouveaux.

FIG. 35. L'auréole disparaît, surtout à gauche. Les filaments se sont répandus dans tout le noyau en s'enchevêtrant. Il n'y a qu'un corpuscule dans chaque noyau.

FIG. 36. Il ne reste plus qu'une trace de l'auréole dans la cellule de droite. Un et deux corpuscules nucléaires. L'élément nucléinien est typique pour le noyau au repos avant la seconde cinèse. Dans la corne d'en haut, à gauche, on voit encore les extrémités des deux filaments primitifs.

FIG. 37. Plus de trace de corpuscule ni d'auréole dans le cytoplasme. Stade peloton; un cordon continu dans chaque noyau. A gauche, les deux nouveaux corpuscules viennent de sortir: premier début des rayons astériens; pas encore d'auréole.

FIG. 38. Même stade: deux cordons à gauche (voir note dans le texte); quatre anses, à droite. A gauche, l'auréole et l'aster se forment autour des corpuscules libérés; à droite, ceux-ci sont encore internes.

FIG. 39. Même stade. Quatre anses; les extrémités d'une même anse se voient nettement dans les cornes de gauche, et en haut, à droite. Après la résolution de

la membrane, les anses de *a* s'ouvrent, se détendent et prennent la position de *b*. A droite, les corpuscules sont sortis et se sont portés loin du noyau; à gauche, deux corpuscules contigus, provenant probablement d'une division.

PLANCHE II.

Ascaris megalocephala univalens.

FIG. 1. Œuf avec ses deux noyaux vus en coupe. Caryoplasme réticulé. Un nucléole-corpuscule dans chaque noyau.

FIG. 2. Deux pronuclei dans leur position naturelle, vus en coupe. Deux corpuscules dans chaque noyau.

FIG. 3. Pronuclei accolés. Deux anses au lieu d'une dans chacun. Un et deux corpuscules.

FIG. 4. Un corpuscule est sorti du noyau de droite, il n'est pas encore entouré d'aster ni d'auréole; dans le noyau de gauche, le corpuscule est encore interne.

FIG. 5. Deux corpuscules sont sortis; les rayons astériens et l'auréole commencent à se marquer. Il reste un corpuscule dans l'un des noyaux qui en avait deux.

FIG. 6. Chaque noyau a émis son corpuscule en position polaire. Début des asters.

FIG. 7. Stade précédant la couronne équatoriale; les deux anses sont encore très allongées et non orientées. Les asters se développent.

Fuseau bien développé, très large parce qu'il est vu de face (voir FIG. 24).

FIG. 8. Dislocation de la couronne. Les anses-filles, soulevées par le milieu, se tiennent encore par leurs extrémités. Le fuseau s'est allongé fortement. Les asters sont pleinement épanouis.

FIG. 9. Les couronnes polaires sont à peu près formées; les deux anses se croisent. Les corpuscules existent encore. Les granules de l'auréole se répandent sur les filaments des asters. Le fuseau n'existe déjà plus et est remplacé par un réseau.

FIG. 10. Les anses se scindent transversalement; les deux branches de l'une d'elles sont encore reliées par un pont qui renferme les nouveaux corpuscules naissant. Le corpuscule de l'autre anse est libéré. — Les corpuscules anciens ont disparu du centre des asters; ceux-ci sont déjà réduits. Le fuseau existe encore.

FIG. 11. Même stade. Corpuscules nouveaux dans les ponts demeurés plus épais. Les deux corpuscules anciens existent encore. L'aster n'a guère diminué. Le fuseau est remplacé par un réticulum.

FIG. 12. Même stade. L'un des corpuscules anciens a disparu. Les asters se sont presque entièrement transformés en réseau. L'auréole a beaucoup diminué.

On remarquera sur cette figure et sur la fig. 10 la formation des deux groupes binaires de bâtonnets, après la scission des anses. Chacune des deux anses primitives fournit un bâtonnet à chaque groupe.

FIG. 13. Formation de la membrane des deux noyaux nouveaux; elle enrobe une large plage de caryoplasme et contourne les bâtonnets en formant des cornes. Les deux nouveaux corpuscules de chaque noyau sont déjà volumineux.

FIG. 14. Même stade; seulement les groupes binaires sont irréguliers. Les asters, l'auréole et les corpuscules anciens se sont maintenus.

FIG. 15. Jeunes noyaux typiques : deux cornes; un groupe binaire dans chaque corne. Corpuscule, aster et auréole ont totalement disparu dans la cellule supérieure; dans l'autre cellule, un reste de l'aster et de l'auréole.

FIG. 16. Les bâtonnets du groupe binaires s'amincissent et se répandent dans le caryoplasme, sous la forme de longs filaments irrégulièrement ondulés.

FIG. 17. État du noyau un peu avant la cinèse. Les filaments se sont retractés et soudés pour former une anse dans chaque corne. Les bouts de l'anse sont à l'intérieur.

Les corpuscules sont venus s'accoler à la membrane du noyau.

FIG. 18. Sortie des corpuscules; l'un d'eux est engagé dans la membrane du noyau supérieur. Dans ce noyau, les anses ont leurs extrémités dans les cornes; dans le noyau inférieur, où les anses ne sont pas encore achevées, ce sera le contraire.

FIG. 19. En bas, l'un des corpuscules est sorti; mais, comme dans la figure précédente, il n'a pas encore formé d'aster. En haut, les deux corpuscules sont sortis depuis plus longtemps, l'aster se dessine nettement.

FIG. 20. Mêmes détails.

FIG. 21. Le filament-peloton ne s'est pas encore scindé en deux anses. Un corpuscule est sorti; il en reste deux dans le noyau. — Gross. : $1,30 \times 4$.

FIG. 22. Également peloton unique; les deux nucléoles sont sortis et fonctionnent déjà.

FIG. 23. Les deux nucléoles récemment sortis sont encore inactifs dans la cellule supérieure; ils ont déjà formé l'aster et l'auréole dans la cellule inférieure.

FIG. 24. Cellule inférieure : comme dans la cellule inférieure de la fig. 23. Le bout des anses est dans les cornes.

La cellule supérieure est au même stade que la fig. 7; seulement le fuseau paraît plus étroit parce qu'il est vu de côté; le fuseau est, en effet, lenticulaire.

FIG. 25. Cellule inférieure; comme dans les deux figures précédentes. Les extrémités des anses sont au fond des cornes, et leur courbure à l'intérieur.

La cellule supérieure est au stade équatorial. Fuseau vu de face, comme dans la fig. 7.

FIG. 26. Couronnes polaires typiques, à anses croisées. Les corpuscules ont déjà disparu et les asters sont en voie de régression.

FIG. 27. Les noyaux sont reformés. Deux groupes binaires de bâtonnets, comme après la première segmentation. Deux corpuscules nouveaux. Les anciens ne se sont pas encore effacés, l'aster est presque retransformé en réseau; le fuseau l'est entièrement.

FIG. 28. La cellule supérieure est au stade équatorial; le fuseau de face est très large, quadrangulaire et à filaments variqueux. Les asters sont très développés; l'aurole se répand déjà sur les noyaux astériens. — La cellule inférieure marque le retour vers les pôles, lorsque les anses-filles se détachent d'abord par une extrémité au sein de la couronne. Les corpuscules ont diminué de volume.

FIG. 29. En haut, même retour; les extrémités des anses, arrivées au pôle, se croisent. — En bas, stade plus avancé. Les extrémités équatoriales se sont détachées, les polaires se sont croisées davantage et vont donner la FIG. 26. Le corpuscule supérieur a disparu; l'inférieur est réduit à l'état de granule.

FIG. 30. Même que FIG. 27; mais les groupes binaires sont plus typiques. Le corpuscule inférieur a disparu.

FIG. 31. Stade équatorial des figures particulières, avec rejet de l'extrémité des anses dans le cytoplasme.

FIG. 32 Retour vers les pôles dans ces mêmes figures. Voir texte.

TABLE DES MATIÈRES

	PAG.
Introduction	63

CHAPITRE I.

Matériaux et méthodes.

§ I. <i>Méthodes antérieures.</i>	
Remarques critiques concernant les fixateurs employés par VAN BENEDEN, BOVERI, KOSTANECKI, VON ERLANGER, etc.	65
Remarques concernant la confection et l'examen de leurs préparations	67
§ II. <i>Nos méthodes.</i>	
Fixation des matériaux	68
Enrobage à la paraffine et à la celloïdine	69
Coloration. Hématoxyline ferrique pour corpuscules et nucléoles	70
Dessins : remarques à propos des figures des auteurs	72

CHAPITRE II.

Les corpuscules et les asters des cinèses polaires.

Aperçu historique	74
Absence de corpuscule dans le cytoplasme de l'ovocyte	75
Réfutation des conclusions que BOVERI avait déduites de cette absence	75
Les corpuscules-nucléoles sont dans le noyau	76
Les corpuscules existent dans les deux figures polaires	77
Leur disparition précoce. Il n'y a pas d'ovocentre	78
Les asters existent dans les figures des deux globules	79
Les cinèses polaires sont des cinèses ordinaires	80

CHAPITRE III.

Le spermatozoïde, le corpuscule spermatique, l'archoplasme et les sphères attractives.

§ I. <i>Le spermatozoïde</i>	
1° <i>Sa structure.</i>	
Aperçu historique	81
Nos observations. Réseau, enchylème, corps réfringent	82
2° <i>Le spermatozoïde dans l'œuf.</i>	
Critique de l'opinion des auteurs sur le sort du spermatozoïde après sa pénétration.	83
Nos observations	85

	PAG.
A. <i>Modification du spermatozoïde. — Plage de fusion.</i>	
Critique des méthodes employées par les auteurs	85
Le corps spermatique se répand dans l'œuf	86
Son influence sur le cytoplasme ovulaire; pullulation du réseau	88
Les corps résiduels; ce qu'ils représentent	89
La plage de fusion ou de pullulation	90
Élaboration finale; structure définitive du cytoplasme fécondé	90
Modification de l'enchylème ovulaire par l'enchylème spermatique	91
B. <i>Fusion.</i>	
Y a-t-il fusion organique entre le corps du spermatozoïde et celui de l'œuf?	92
Influence des substances chimiques sur la structure du cytoplasme	92
Signification de l'aire plasmatique de KOSTANECKI, etc.	93
§ II. <i>Corpuscule spermatique.</i>	
A. <i>Il n'existe pas</i>	93
Explication des résultats de BOVERI et de V. ERLANGER	94
B. <i>Il ne se divise pas</i>	96
Pourquoi on a cru qu'il se divisait	96
§ III. <i>L'archoplasme et les sphères attractives.</i>	
1° <i>Archoplasme.</i>	
Il n'existe pas comme tel. Critique des observations de BOVERI	97
2° <i>Sphères attractives.</i>	
Elles n'existent pas comme corps autonomes Critique des observations de VAN BENEDEN.	99

CHAPITRE IV.

La segmentation.

§ I. <i>Les corpuscules de segmentation.</i>	
Ce sont les nucléoles plasmatiques	101
1° Leurs propriétés	102
2° Leur origine	102
3° Leur nombre	103
4° Leur rôle	105
Ils sortent du noyau, au stade peloton, avant la résolution de la membrane nucléaire	106
Les nucléoles servent de corpuscules de division	109
Coincidence entre cette sortie et l'apparition du centrosome et des sphères des auteurs	109
§ II. <i>Les asters.</i>	
I. <i>Formation.</i>	
Ils naissent dans le cytoplasme ordinaire sous l'influence du corpuscule	110
Rayons et auréole centrale	111
II. <i>Modifications du corpuscule.</i>	
Il se dissout. Comment il produit l'aster.	112
III. <i>Corpuscules superflus.</i>	
Leur sort. — Figures multipolaires	113
IV. <i>Auteurs.</i>	
Critique de l'opinion de VAN BENEDEN et de BOVERI sur la formation et la constitution de l'aster	114
§ III. <i>Sort des corpuscules et des asters.</i>	
1° Les corpuscules, les asters et l'auréole disparaissent à chaque segmentation	116
2° Les corpuscules et les asters ne se divisent pas	118

	PAG.
Pourquoi on a cru à leur division	119
§ IV. <i>Le fuseau.</i>	
Opinions des auteurs sur sa formation et sa constitution. Réfutation	121
Le fuseau est d'origine nucléaire	122
1° <i>Structure des pronuclei. Caryoplasme réticulé; Kernsaft des auteurs</i>	122
2° <i>Leur position.</i>	
Ils sont rapprochés ou accolés. Critique des observations de BOVERI	123
3° <i>Formation du fuseau.</i>	
Il se forme tout entier dans le caryoplasme réticulé sous l'influence du corpuscule	123
Il est autonome et indépendant des asters	125
Critique des observations de BOVERI	125
4° <i>Constitution du fuseau.</i>	
Les filaments sont unis, continus, convergents en un point qui touche au corpuscule	125
Les deux cônes distincts de VAN BENEDEN et de BOVERI n'existent pas	125
§ V. <i>Couronnes polaires.</i>	
1° <i>Retour aux pôles.</i>	
Critique des observations de HERLA	129
Couronnes polaires normales	129
2° <i>Corpuscules nouveaux</i>	
Leur formation au milieu des anses de la couronne.	130
3° <i>Groupe binaires.</i>	
Scission transversale des anses.	131
Formation des groupes binaires et mixtes	131
C'est à tort que VAN BENEDEN et HERLA ont admis la division longitudinale dans les couronnes polaires	132
4° <i>Mécanisme du retour polaire.</i>	
Les deux cônes remorqueurs de VAN BENEDEN et BOVERI, la zone périphérique de KOSTANECKI n'existent pas	133
Il n'y a pas de filaments rétracteurs dans le fuseau	133
Le faisceau connectif est d'origine fusoriale	134
Pourquoi il est moins fourni que le fuseau	135
Le fuseau se retransforme intégralement en réseau	135
§ VI. <i>Reconstitution des noyaux</i>	
Opinion des auteurs	136
Une portion de protoplasme est enrobée par la membrane nucléaire	136
Protubérances du noyau	137
Critique des observations de HERLA	137
Changements qui s'observent dans l'élément nucléinien	138
Critique des observations de VAN BENEDEN, HERLA et BOVERI	139
Ce qui se passe dans le noyau au repos	140
Formation du peloton et des anses de la seconde cirèse.	141
Les anses sont de nature mixte	142
Les chromosomes ne sont pas autonomes et permanents	143

CHAPITRE V.

Nucléoles et corpuscules.

1° <i>Propriétés des nucléoles et des corpuscules</i>	
Leur constitution chimique et organique est semblable	144

	PAG.
2° <i>Entrée en activité des nucléoles.</i>	
Ils entrent très tôt en activité, au stade peloton.	145
3° <i>Manière d'être du nucléole pendant la cinèse.</i>	
Elle est très variable, fragmentation, dissolution, émigration	146
Ils ne rentrent pas dans le noyau, comme l'ont pensé ZIMMERMANN, HERTWIG, JULIN, etc.	147
4° <i>Rôle des nucléoles.</i>	
Opinions diverses des auteurs	148
Les nucléoles fournissent les corpuscules	149
Historique	149
Critique des observations des auteurs	151
Notre opinion. Réponse aux objections.	152
Y a-t-il plusieurs sortes de nucléoles?	152
Explication des figures sans corpuscule figuré	153
Les corpuscules multiples sont dus à la fragmentation	155
Les corpuscules se dissolvent après la cinèse; il n'y en a pas dans le cytoplasme au repos	156
5° <i>Origine des nucléoles.</i>	
1° Opinion des auteurs	157
Critique	158
2° Mode de formation des corpuscules.	159
Chez l' <i>Iscaaris</i> , ils sont d'origine nucléinienne	160
Modifications chimiques de la nucléine.	161

CHAPITRE VI.

Fécondation et hérédité.

§ I. *Fécondation.*I. *Théorie de Boveri; sa réfutation.*

Exposé de la théorie.	162
Sa réfutation	164
L'absence de centrosome cytoplasmatique n'empêchant pas l'œuf de se diviser	164
Le corps spermatique ne fournit pas le centrosome de segmentation	164
Les expériences de BOVERI ne sont pas probantes	164
Résultats des expériences de MORGAN et de ZIEGLER	165
Pourquoi le fragment d'œuf à noyau spermatique est plus actif que le fragment à pronucleus femelle	166
Le centrosome spermatique ne peut être permanent	167

II. *Conditions de la segmentation.*

a) Les deux pronuclei sont nécessaires.	168
b) Le noyau spermatique doit fournir un corpuscule	169
c) Le cytoplasme ovulaire doit subir l'influence du corps spermatique	170
Rôle des irradiations produites par le <i>Mittelstück</i> ; critique de l'opinion de KOSTANECKI, VAN DER STRICHT et MAC FARLAND	171
Définition de la fécondation	172

III. *Primum movens de la segmentation.*

Ce ne sont pas les sphères, ni le cytoplasme; critique de l'opinion de VAN BENEDEN et BOVERI	173
L'impulsion vient du noyau; son rôle dans la division	174
C'est le corpuscule qui est le <i>primum movens</i>	174

	PAG.
§ II. <i>Hérédité.</i>	
Sa notion.	174
Exposé de la théorie actuelle de l'hérédité.	175
Examen de cette théorie	176
1 ^o Rôle des substances chimiques	176
Hybrides de greffe de DANIEL et de LEFORT	176
Vues de A. GAUTIER	177
2 ^o Qualités du substratum des propriétés héréditaires	177
3 ^o Le corps spermatique peut jouer un rôle actif	177
4 ^o Les chromosomes ne sont pas seuls chargés de la transmission des caractères	178
Pourquoi on a considéré ces éléments comme seuls porteurs de l'hérédité.	178
L'œuf fécondé transmet les propriétés des deux parents parce qu'il est mixte dans tous ses éléments.	179
Le <i>substratum</i> des propriétés héréditaires est l'œuf tout entier : protoplasme et noyau	179
Conclusions	180
Explication des Planches	185

◆

Foldout

Here

◆ ◆

◆

◆

Foldout

Here

◆ ◆

◆

LES CINÈSES SPERMATOGÉNÉTIQUES

CHEZ

L'HELIX POMATIA

PAR

Arthur BOLLES LEE

(Mémoire déposé le 10 mai 1897.)

LES CINÈSES SPERMATOGÉNÉTIQUES

CHEZ

L'HELIX POMATIA (*)

INTRODUCTION

Les phénomènes de la spermatogénèse chez les gastéropodes pulmonés ont été, à plusieurs reprises, l'objet de l'attention des anatomistes.

En 1887, M. DUVAL⁽¹⁾ énonce les conclusions suivantes :

Au printemps, certaines cellules de l'épithélium germinatif de l'ovotestis, qu'il appelle *orules mâles*, augmentent de volume et produisent dans leur protoplasme par voie de formation endogène de nombreux noyaux. Ces noyaux se divisent et, par leur multiplication répétée, donnent lieu à la formation d'une masse de cellules piriformes disposées en grappe autour de l'ovule mâle. Chacune de ces cellules deviendrait, selon DUVAL, par différenciation ultérieure, un spermatozoïde.

BLOMFIELD⁽²⁾, dans son mémoire de 1881, arrive à des conclusions qui, pour ce qui regarde les masses de cellules piriformes disposées en grappes autour d'une grande cellule centrale, ne diffèrent guère de celles de DUVAL. La différence essentielle entre les deux auteurs est que DUVAL avait admis que les petites cellules piriformes avaient pris naissance par formation endogène dans le corps de la grande cellule, tandis que BLOMFIELD pense qu'elles dérivent de la division régulière du noyau de celle-ci.

(1) DUVAL : Revue des sciences naturelles, t. VII, juin, 1878.

(2) BLOMFIELD : Quart Journ. Mic. Sc., vol. XXI, July, 1881, p. 415.

(*) NOTE. — La Rédaction croit de son devoir de faire remarquer que le manuscrit de M. BOLLES LEE lui est parvenu le 10 mai 1897, c'est-à-dire à une époque où le mémoire de MM. CARNOY et LEDRUN n'était pas encore sorti de presse. Les résultats exposés par M. BOLLES LEE ont donc été obtenus d'une manière absolument indépendante des conclusions que MM. CARNOY et LEDRUN ont formulées dans le travail précédent.

Il admet comme DUVAL que les petites cellules piriformes se transforment directement en spermatozoïdes. Il donne aux grandes cellules centrales, c'est-à-dire aux *ovules mâles* ou *cellules-mères* de DUVAL, le nom de *cellule blastophorale* ou *blastophore*; il appelle *spermatoblastes* les petites cellules piriformes, et *sperm-polyplasts* les grappes cellulaires formées par l'ensemble de ces deux sortes d'éléments.

Ni l'un ni l'autre de ces auteurs n'ont étudié les processus cytologiques de la division de ces cellules.

De ces deux mémoires nous pouvons retenir comme un fait établi la production, pendant la spermatogénèse des *Helix*, de masses cellulaires en forme de grappes de cellules plus ou moins piriformes disposées autour d'une cellule plus grande, centrale, ou, pour mieux dire, basale. Je pense que nous ne risquons pas beaucoup de nous tromper en admettant l'homologie de cette grande cellule basale avec la grande cellule basale des colonies spermatogénétiques des mammifères, avec les cellules de SERTOLI ou *cellules de soutien* de RENSON. Mais quant aux liens de filiation admis par DUVAL et BLONFIELD entre la cellule basale et les cellules piriformes auxquelles elle sert de soutien, je ne puis regarder leur manière de voir comme exacte.

Ces auteurs supposent que les petites cellules sont produites par la grande, ou du moins que les deux sortes d'éléments dérivent d'une commune cellule-mère. J'admets que cette manière de voir a pour elle beaucoup de vraisemblance : mais lorsque j'ai essayé de la vérifier par l'observation directe, j'ai échoué. Un coup d'œil rapide sur la manière d'être de ces deux sortes d'éléments fera peut-être comprendre la difficulté qu'il y a à résoudre ce problème, et servira en même temps d'orientation générale dans le sujet qui va nous occuper.

La FIG. 1 représente, sous un faible grossissement, une coupe d'un cul-de-sac d'un ovotestis de *Helix pomatia* pris sur un individu adulte sacrifié à la fin de mai, et en conséquence en pleine activité fonctionnelle. La coupe ne comprend que des éléments de la lignée mâle et des cellules indifférentes, c'est-à-dire qu'elle ne contient ni ovules ni cellules folliculaires. La paroi du cul-de-sac est constituée par une membrane basale, *m. b.*, dont je n'ai pas étudié la structure, tapissée intérieurement par un épithélium germinatif, *ep.* Dans la préparation en question, cet épithélium se présente sous la forme d'un syncytium. On n'y voit qu'une couche de protoplasme

d'épaisseur médiocre, ayant un réticulum plasmatique dont les travées sont orientées surtout dans un sens parallèle à la membrane basale, et contenant une seule couche de noyaux, ou, au plus, en quelques endroits deux couches, et ne montrant aucune trace d'une division de sa masse générale en des territoires appropriés aux divers noyaux. Ilâtons-nous de le dire, cet état des choses n'est pas le seul qui puisse se présenter, il n'est pas même typique. Le cas le plus ordinaire est que les cellules constitutives de l'épithélium sont nettement différenciées les unes des autres, et sont toutes entourées de toutes parts d'une membrane cellulaire parfaitement évidente. Les noyaux de cet épithélium n'ont rien de particulier, ils offrent l'aspect ordinaire de noyaux au repos, c'est-à-dire en somme un élément chromatique affectant la disposition qui, pour les uns, est l'expression d'un élément floïde pelotonné, et pour les autres, un *réticulum* contenant des granules : ici cependant cet élément chromatique est très fourni et se colore très vigoureusement.

Au-dessus de cet épithélium s'élèvent les énormes masses irrégulières des cellules basales, *c. b.* Ces cellules peuvent avoir jusqu'à 60 μ , 70 μ , 80 μ ou même jusqu'à 100 μ et 120 μ dans toutes leurs dimensions. Elles reposent sur l'épithélium par un pied élargi et aplati, souvent à tel point qu'il peut être difficile d'en raccorder les zones les plus éloignées avec la masse centrale. La masse générale de la cellule s'élève comme une colline au-dessus de ce pied. Elle peut ne présenter qu'une seule élévation partant directement du pied, ou elle en peut présenter plusieurs, comme c'est le cas pour la cellule à l'angle inférieur de la coupe, au-dessus du trait du renvoi, *m. b.* Les collines peuvent être simplement arrondies, comme dans la cellule en question, ou bien, elles peuvent être profondément échancrées ou fortement lobées, à lobes même subdivisés en ramifications quelquefois très longues et grêles qui s'insinuent au loin entre les divers groupes de cellules spermatogénétiques qu'elles portent à leur surface,

Les cellules basales ont, au moins du côté qui est tourné vers la lumière du cul-de-sac, pour la plupart une membrane cellulaire distincte; mais cette membrane est quelquefois très difficile à voir, et je ne voudrais pas assurer qu'elle ne puisse faire défaut dans de certaines conditions physiologiques. Leur protoplasme est très clair, d'aspect gélatineux, à réticulum cytoplasmique très peu fourni, à travées très fines et très espacées. Mais le détail le plus remarquable de ces cellules, détail qui leur donne un aspect particulier qui les fait reconnaître à première vue, c'est l'abondance

extraordinaire de certaines enclaves particulières qu'elles contiennent. Ces enclaves se présentent sous la forme de gouttelettes réfringentes d'une substance visqueuse qui brunit fortement dans le mélange de FLEMMING et à laquelle on peut en conséquence attribuer avec un certain degré de probabilité une nature grasseuse (je n'ai pas fait d'autres épreuves microchimiques pour vérifier cette supposition). Ces gouttelettes peuvent être rondes, mais elles sont souvent allongées, ovales ou fusiformes, et en ce cas s'étirent volontiers en des fils qui les réunissent les unes aux autres ou se perdent bientôt dans le cytoplasme. Ce sont ces corps qui ont attiré l'attention de DUVAL et de BLOMFIELD, et qui ont fait que ces auteurs ont décrit ces cellules sous le nom de *cellules granuleuses*.

Ces enclaves, sur lesquelles je reviendrai peut-être dans une autre occasion, ne doivent pas nous retenir plus longtemps; ce qui nous intéresse davantage en ce moment, c'est la structure des noyaux de ces cellules. Ces noyaux, FIG. 1, *n. c. b.*, et FIG. 2, sont sphériques ou le plus souvent ovales, et sont situés sans exception dans la partie basale de la cellule. Ils sont très gros, de 25 μ de diamètre, et même plus dans les cellules développées. Ils ont un aspect tout différent de celui des noyaux de la série spermatogénétique. Ces derniers, en effet, nous présentent, d'après l'interprétation que je leur donne, un élément filoïde de chromatine enrobé dans un caryoplasme réticulé; ou bien, selon l'interprétation que leur donnerait l'école de FLEMMING, une *charpente nucléaire* chromatique plongée dans un suc nucléaire finement granuleux; en tout cas, dans les cellules au repos, un élément filoïde ou réticulé chromatique se présentant sur un fond d'apparence granuleuse et sombre, c'est-à-dire teinté par les réactifs. L'aspect des noyaux des cellules basales est tout autre. L'élément chromatique ne s'y présente pas sous la forme filoïde ou réticulée sur fond sombre; il se présente sous la forme d'une quantité innombrable de petits chromosomes de forme définie, se détachant sur un fond parfaitement clair, ce qui donne à tout le noyau, dans les préparations colorées, un aspect particulièrement brillant, et permet immédiatement de distinguer ces noyaux de ceux de la série spermatogénétique.

Ces chromosomes, FIG. 2, ont la forme de petits bâtonnets plats ou ronds, droits ou incurvés, mesurant environ de 1 μ sur 0,5 μ , jusqu'à 2 μ sur 1 μ . Souvent, ils ont un certain aspect dimidié ou géminé, qui fait penser à une division longitudinale; même ils donnent souvent à l'observateur l'impression de figures en V dont les deux branches seraient extrêmement rapprochées. Ils peuvent se prolonger en des fils achromatiques à leurs extré-

mités; mais je n'ai jamais pu constater qu'ils fussent en rapport avec des fils latéraux. Je ne puis affirmer avec certitude que ces fils relient les chromosomes entre eux; certains noyaux me font l'impression d'un boyau nucléinien fortement étranglé, mais dont les étranglements chromatiques peuvent être reliés entre eux par des trajets achromatiques très ténus. D'autres noyaux, au contraire, ne laissent point voir de fils du tout et paraissent ne contenir que des chromosomes entièrement isolés, et ayant des extrémités arrondies. Là où le noyau porte les sillons ou fentes mentionnés plus bas, ces chromosomes s'agencent d'une façon assez régulière le long des sillons dans une position normale au contour des sillons, en y formant une sorte de palissade qui rappelle un épithélium cylindrique, FIG. 2. Ils sont très chromatiques, et se colorent avec autant de vigueur que les chromosomes des couronnes équatoriales des cellules spermatogénétiques voisines.

Outre les chromosomes, ces noyaux contiennent un ou plusieurs gros nucléoles plasmatiques.

Quelle serait donc, d'après ces données, la nature de l'image que nous devrions pouvoir mettre en évidence pour prouver que les petites cellules piriformes ont été produites par les grandes cellules basales qui les portent, ou que les unes et les autres sont issues d'une même cellule-mère? Nous devrions pouvoir montrer, semble-t-il, une cellule à deux ou à plusieurs noyaux, ou bien un cyste à plusieurs cellules, dont un des noyaux aurait les caractères particuliers des noyaux des cellules basales, tandis que les autres noyaux auraient les caractères des noyaux ordinaires de la série spermatogénétique. Or, je n'ai pas pu établir jusqu'ici l'existence de pareilles images. On trouve en abondance dans les glandes génitales, surtout dans celles de sujets jeunes, des cellules à deux ou à plusieurs noyaux, et même, mais beaucoup plus rarement, des cystes formels. Mais toujours j'ai trouvé que tous les noyaux de ces groupes cellulaires présentaient les caractères des noyaux ordinaires, et non ceux des noyaux des cellules basales.

Il y a plus. On trouve en abondance des cellules basales nues, c'est-à-dire, ne portant pas de spermatogonies ni de spermatocytes. Ces cellules basales seraient-elles destinées à se diviser pour donner naissance à des cellules-filles qui se constitueraient en spermatogonies? Nous pouvons hardiment affirmer que non. Jamais je n'ai vu se diviser, ni par cinèse ni par sténose, une cellule ayant nettement les caractères d'une cellule basale. Il est vrai que les noyaux de ces cellules présentent souvent des apparences qui peuvent faire songer à une division imminente. Le contour de ces noyaux

est en somme, comme il a été dit, sphérique ou ovale. Mais très souvent il porte des dépressions étroites et profondes de la surface, des sillons qui simulent des fentes, FIG. 2, et qui peuvent intéresser presque toute l'épaisseur du noyau, qui devient ainsi profondément bilobé, ainsi que cela a lieu si souvent dans les cellules épithéliales et autres des amphibiens. Mais il ne faudrait pas pour cela supposer que ces sillons doivent amener une division du noyau. Au contraire, ce processus paraît s'arrêter toujours avant que la division du noyau n'ait eu lieu ; et je ne puis pas me rappeler avoir jamais observé deux noyaux dans une même cellule basale. Quant à une division possible par cinèse, il ne faudrait pas y songer : jamais ces cellules n'en présentent le moindre indice.

Si donc il y a des cellules basales nues, et si ces cellules ne peuvent pas engendrer les cellules spermatogénétiques, il faut bien, semble-t-il, admettre que les colonies cellulaires en question se forment d'une autre manière.

Je suis porté à admettre que les choses se passent comme il suit.

Une cellule quelconque de l'épithélium germinatif se met à augmenter rapidement de taille et à revêtir les caractères d'une cellule basale. Une telle cellule se voit au haut de la FIG. 1, en x. En même temps, les cellules avoisinantes de l'épithélium germinatif se mettent à se diviser et à revêtir les caractères de spermatogonies. Leur progéniture, rapidement produite, ne peut pas s'étendre latéralement, empêchée qu'elle est par les cellules fixes de l'épithélium. Il se produit donc une poussée : les spermatogonies nouvelles se casent à la seule place qui leur est ouverte, c'est-à-dire sur les larges flancs de la cellule basale augmentant rapidement de surface et se levant en colline au-dessus de la foule des cellules quiescentes de l'épithélium.

Chaque colonie (1) représenterait donc une colline épithéliale dont le centre serait constitué par une seule cellule énorme, supportante et nutritive.

Nous avons prononcé le mot de *nutritif*. Que la cellule basale soit une cellule de soutien, cela ressort avec évidence de ses rapports anatomiques. Que ce soit aussi une cellule nourricière, cela me paraît aussi résulter avec

(1) Pour ne rien préjuger, je me sers du terme de *colonie* pour désigner les groupes cellulaires formés par l'union d'une cellule basale et de cellules spermatogénétiques. Le terme de *polyplaste* proposé par BLOMFELD pour marquer le lien génétique qu'il admet entre ces deux sortes d'éléments me paraît superflu, d'autant plus que le terme de *spermatogemme*, proposé par VON LA VALETTE ST. GEORGE dans le même but et avec la même signification, a le droit de priorité.

non moins d'évidence de sa structure cytologique. L'énorme provision d'enclaves, graisseuses ou autres, que renferment ces cellules, fait penser immédiatement à une sorte de vitellus nutritif destiné à la nutrition des spermatogonies, des spermatocytes et des spermatides, même des spermatozoïdes. Il n'y a guère de doute, je crois, qu'il en soit ainsi. Car on constate qu'au fur et à mesure que les cellules spermatogénétiques se développent, cette provision d'enclaves diminue; et à la fin de la spermatogénèse, il ne reste plus dans la cellule basale qu'un noyau dégénéré entouré d'un cytoplasme également en dégénérescence et entièrement dépouillé de ses enclaves graisseuses.

Quant à la façon dont s'opère la nutrition des cellules spermatogénétiques par ce pabulum, c'est une question à laquelle je ne puis répondre en ce moment d'une façon définitive. Ces gouttelettes graisseuses traversent-elles comme telles la membrane de la cellule basale et celle de la cellule spermatogénétique, pour être ensuite digérées par celle-ci? Ou bien se dissolvent-elles dans la cellule basale, pour passer à travers sa membrane à l'état liquide? Pour les spermatogonies, qui possèdent une membrane cellulaire extrêmement mince, ou qui même peuvent en être dépourvues, je crois bien que c'est le premier cas qui se réalise. Car j'ai rencontré fréquemment des colonies de spermatogonies dont toutes les cellules contenaient un ou même deux globules assez exactement comparables aux gouttelettes des cellules basales. Je n'ai pas observé ces inclusions chez les spermatocytes, ce qui pourrait bien être en rapport avec le fait que ceux-ci sont munis d'une membrane cellulaire très forte. J'admets que pour eux la nutrition doit se faire par l'absorption du pabulum à l'état liquide.

Encore un mot sur la structure particulière des noyaux des cellules basales : j'admets que cette structure particulière des noyaux des cellules basales est en rapport avec la fonction de ces éléments. Mais pourquoi, se demande-t-on, une cellule ayant telle ou telle fonction, mais étant essentiellement une cellule de repos, aurait-elle son noyau constitué d'une façon qui rappelle celui d'un noyau en cinèse, c'est-à-dire un noyau contenant des chromosomes indépendants, au lieu d'un élément chromatique continu? Il serait impossible de donner aujourd'hui une réponse satisfaisante à cette demande; mais voici un fait qui est peut-être essentiellement de même ordre, et qui contribuera peut-être un jour à éclairer la question. M^{lle} HUIE(1),

(1) M^{lle} HUIE : Quart. Journ. mic. Sci., vol. 39, N. S., 1897.

en nourrissant des feuilles de *Drosera rotundifolia* avec du blanc d'œuf, a pu provoquer la formation de chromosomes isolés dans les noyaux des cellules glandulaires de ces feuilles. Elle a obtenu ainsi la formation de chromosomes isolés d'une forme définie de V, formation qui ne se trouve pas dans les cellules quiescentes normales, et au nombre constant de 8, et cela sans que cette production aboutisse à une cinèse. M^{lle} HUIE conclut de ces expériences que la formation de chromosomes n'est pas nécessairement un trait caractérisant uniquement l'état de cinèse, mais qu'elle peut être simplement l'expression d'une grande activité fonctionnelle du noyau.

Voici une autre observation qui a peut-être une signification pareille. MEVES (1) a trouvé que dans les glandes filières de certaines chenilles la chromatine se présente sous la forme d'innombrables *microsomes* isolés : donc, de nouveau une disposition semblable dans des cellules à fonction glandulaire.

Je ne cherche pas pour le moment à approfondir davantage les premiers phénomènes de l'évolution de la glande génitale. Cette question, difficile partout, est ici compliquée par le fait que nous avons affaire à une glande hermaphrodite. Les jeunes ovules, aux premiers stades de leur développement, ne se laissent souvent distinguer en rien des spermatogonies. Leurs cellules folliculaires ressemblent, à s'y méprendre, à de jeunes cellules basales (les noyaux des cellules folliculaires ont une structure sinon identique, au moins très semblable à celle des noyaux des cellules basales, détail intéressant parce qu'il indique une correspondance de structure et de fonction : car les cellules folliculaires sont, comme on le sait, les cellules nourricières de l'œuf. Il est donc très difficile de distinguer aux premiers stades de leur développement les éléments de la série femelle. J'ai donc jugé plus prudent, pour éviter toute méprise qui pourrait être causée par cette source d'erreur, de renoncer à l'étude de ces phénomènes primordiaux et de me borner à l'étude de l'évolution des éléments de la série mâle à partir d'un moment où les caractères de cette série sont nettement prononcés. Mes études négligent donc pour le moment les cellules sexuelles primordiales, et commencent par les spermatogonies.

Le sujet spécial qui va dorénavant nous occuper, à savoir l'étude des cellules spermatogénétiques depuis les spermatogonies jusqu'aux sperma-

(1) MEVES : Arch. f. mik. Anat., XXXVIII, 1897, p. 573.

toocytes de deuxième ordre, a déjà été traité avec plus ou moins de détail par trois auteurs.

PLATNER a donné (1) une description assez détaillée des faits qu'il croit avoir observés dans la spermatogénèse des Pulmonés, description que je prie le lecteur de bien vouloir consulter dans l'original en me bornant à en relever ce qui suit.

D'après PLATNER (2), le noyau des spermatogonies consisterait d'abord en des granules de chromatine alignés dans une charpente filamenteuse. Cette charpente disparaîtrait ensuite (3), et les granules de chromatine deviendraient libres dans le noyau. Ces granules ainsi libérés se fusionneraient ensuite pour former des grains plus gros, toujours libres dans le noyau et ne présentant pas de connexions entre eux (4). Ces gros grains se divisent à plusieurs reprises par sténose (5). Ensuite de ces divisions répétées, le noyau finit par ne plus contenir (6) qu'une quantité très grande de petits grains ronds, sans connexions entre eux, et distribués d'une manière uniforme dans le noyau (7). Ces grains chromatiques libres, que PLATNER appelle désormais des *microsomes*, s'agencent maintenant en des lignes courbes, orientées vers un pôle dont la place est déterminée par le Nebenkern (8). Puis les bandes courbes de microsomes ainsi orientés se contractent vers le Nebenkern, et des filaments réunissants se forment entre les microsomes (9). Le peloton ainsi formé se dilate (10) de manière à former une étoile (11). Les anses chromatiques de cette étoile se contractent vers l'équateur, et leurs microsomes se fusionnent en de gros grains; en même temps le fuseau se dessine aux pôles de la figure (12). Ces gros grains se concentrent encore davantage pour former des grains encore plus gros, ronds ou ovales,

(1) PLATNER : *Ueber die Entstehung des Nebenkerns und seine Beziehung zur Kerntheilung*; Arch. f. mikr. Anat., XXVI, 1886, p. 343.

(2) Ibidem : l. c., p. 346.

(3) Ibidem : l. c., p. 346.

(4) Ibidem : fig. 4.

(5) Ibidem : p. 347 et fig. 5.

(6) Ibidem : l. c., p. 347.

(7) Ibidem : fig. 6.

(8) Ibidem : fig. 7.

(9) Ibidem : fig. 8; cf. FIG. 7 et 8.

(10) Ibidem : p. 348.

(11) Ibidem : fig. 10; peut-être la prophase de spermatogonie que nous avons figurée en FIG. 13 à 15.

(12) Ibidem : l. c., p. 349, et fig. 11 : évidemment une métacinèse de spermatocyte; comparez les FIG. 45 et 46.

qui s'arrangent en une couronne équatoriale (1). Suit alors une description assez exacte de la métacinèse des éléments de cette couronne et de leur ascension polaire et de la reconstitution en noyaux-filles.

Mais ici une surprise nous attend. Les couronnes polaires, selon PLATNER (2), s'excavent en forme de croissant; ce croissant se différencie en des anses orientées vers un nouveau *Nebenkern* qui se forme à ce moment, et les anses s'agencent en une charpente filamenteuse de noyau au repos (3).

On le voit, dans toute cette description, il n'est question que du cycle cinétique *d'une seule sorte de cellules*; PLATNER ne se doute pas que dans la spermatogénèse des *Helix* il puisse se trouver plus d'un type de cinèse et par conséquent plus d'une catégorie de cellules.

Le travail de PRENANT (4) est certainement déjà connu des lecteurs de ces pages. Je puis donc me contenter d'en rappeler un ou deux points. PRENANT y critique avec raison l'assertion de PLATNER, d'après laquelle les granules isolés de sa fig. 11 se concentreraient de manière à former les grains volumineux de la couronne équatoriale de sa fig. 12. Il fait remarquer que d'habitude, à mesure que le boyau nucléinien s'approche du stade équatorial, ses tendances au contraire à la segmentation transversale d'abord, longitudinale ensuite, se manifestent de plus en plus. Cette réflexion fort juste l'a conduit à des vues beaucoup plus conformes à la réalité que celles de son devancier.

Il a bien reconnu dans tous les noyaux observés le réticulum achromatique qui avait échappé à PLATNER, erreur d'observation qui avait conduit cet anatomiste à énoncer sa curieuse doctrine de l'édification des figures cinétiques aux dépens de granules chromatiques libres.

Quant aux images qu'il a observées et dont il donne la description, on pourrait les faire coïncider jusqu'à un certain point avec celles de PLATNER; mais si l'on voulait les mettre en série, l'ordre de cette série serait l'inverse de celui de PLATNER.

Malheureusement, tout comme PLATNER, PRENANT a tenté la sériation des images qu'il avait observées sous l'empire de la supposition qu'elles se rapportaient toutes à un seul type de cinèse, à une seule catégorie de cel-

1) PLATNER : fig. 12 : évidemment une couronne équatoriale de spermatocyte I, FIG. 42 et 43.

2) *Ibidem* : l. c., p. 351 et fig. 22 : évidemment une prophase de spermatogonie; comparez la FIG. 12.

3) *Ibidem* : l. c., p. 352, et fig. 23.

4) PRENANT : *Observations cytologiques sur les éléments séminaux des Gastéropodes pulmonés*; La Cellule, IV, 1, 1888, p. 137.

lules. La série hypothétique à laquelle il était arrivé ainsi ne lui parut cependant pas complète : elle lui parut présenter une lacune. Les difficultés qu'il sentit le conduisirent enfin à admettre la supposition que peut-être il s'agissait là de cinèses de *deux* sortes d'éléments; par exemple, de spermatogonies et de spermatocytes. Mais cette supposition, PRENANT n'y a pas donné suite et, comme résultat, son travail ne nous offre qu'une seule série de figures cinétiques contenant des lacunes avouées.

Dans un travail subséquent, PLATNER (1) admet, p. 128, la nouvelle sériation des figures proposée par PRENANT, mais sans poursuivre la suggestion de cet auteur que peut-être ces figures appartiendraient à deux types de cinèse et à deux catégories de cellules.

En dernier lieu, K. W. ZIMMERMANN (2) a rendu compte d'une façon assez abrégée et sans figures de ses observations sur ce sujet. Il distingue deux sortes de cinèse, appartenant à deux sortes de cellules. La première sorte de cellules serait plutôt petite et posséderait fort peu de cytoplasme. A l'état de repos, sa chromatine existerait sous la forme d'anses orientées vers le Nebenkern (3). Il ne décrit pas avec détail la suite des figures cinétiques de ces cellules, vu qu'il n'a pas pu les observer.

La deuxième sorte de cellules, selon ZIMMERMANN, consisterait en des cellules plutôt grosses et riches en cytoplasme. Le noyau au repos de ces cellules (4) aurait une structure particulière. Sa chromatine existerait sous la forme de petits amas, *Klümppchen*, arrondis et troués. Évidemment ici, ZIMMERMANN a fait la même méprise que pour les spermatogonies : ce qu'il décrit n'est point un stade de repos du spermatocyte, mais de nouveau une prophase avancée, celle même qui précède immédiatement la couronne équatoriale, FIG. 31 à 37. Les phases suivantes de la cinèse de cette sorte de cellules sont décrites par ZIMMERMANN avec assez d'exactitude, mais d'une façon extrêmement sommaire. Leur progéniture se transformerait, selon lui, directement en spermatozoïdes.

(1) PLATNER : *Beitrag zur Kenntniss der Zelle und ihrer Theilungserscheinungen*; Arch. f. mik. Anat., XXXIII, 1889, p. 128.

(2) K. W. ZIMMERMANN : *Verhandlungen d. anatomischen Gesellschaft*, V. Vers., Mai, 1891, p. 187.

(3) Ibidem : l. c., p. 189. — Évidemment ce que ZIMMERMANN décrit ici, ce sont les spermatogonies à l'état de peloton segmenté, FIG. 7 à 11, et, comme à PLATNER, le stade de repos de ces cellules lui a échappé.

(4) Ibidem : l. c., p. 199.

Pour ZIMMERMANN, il y aurait donc dans la spermatogénèse de l'*Helix* deux catégories de cellules, se divisant selon deux types de cinèse pour donner naissance aux spermatides.

Or, j'ai trouvé qu'il n'y a pas que deux catégories de cellules et deux cinèses : il y a trois catégories de cellules parfaitement distinctes, se divisant selon trois types de cinèse. Ce sont ces cellules et ces cinèses que nous allons maintenant étudier, en réservant pour une autre occasion l'étude de la métamorphose des spermatides en spermatozoïdes.

La terminologie employée dans ce travail est celle de VON LA VALETTE ST. GEORGE, dans la forme modifiée proposée par BOVERI (1). Je distingue en conséquence dans la glande évoluant de l'*Helix* :

1° Les cellules sexuelles primordiales, cellules de l'épithélium germinatif, dont nous avons décidé de ne pas nous occuper dans le présent travail.

2° Les spermatogonies, cellules essentiellement prolifératives, se multipliant avec une telle rapidité que, le temps nécessaire pour la croissance faisant défaut, elles en arrivent à être très dépourvues de cytoplasme, et souvent à être réduites à une taille excessivement petite.

3° Les spermatocytes de premier ordre, ou spermatocytes I, qui ne sont en vérité autre chose que la dernière génération des spermatogonies, mais après récupération par un repos prolongé, et se présentant sous la forme de très grosses cellules munies d'un cytoplasme particulièrement abondant.

4° Les spermatocytes de deuxième ordre, ou spermatocytes II, issus des spermatocytes I, et présentant les mêmes caractères cytologiques, si

(1) BOVERI : Ergebnisse der Anatomie, I, 1891 (1892), p. 444.

Tout en employant cette terminologie, je dois dire que je ne la trouve pas entièrement bonne. Il me semble qu'il y aurait peut-être utilité à distinguer par des dénominations plus *distinctives* les deux catégories de cellules qui se divisent selon des cinèses aussi diverses que celles des spermatocytes I et des spermatocytes II. Il sera peut-être utile un jour de donner aux premières l'appellation d'*Luxocytes*, pour marquer en même temps leur caractère physique et leur rang physiologique. Car évidemment le rôle essentiel de ces éléments, c'est de *croître* beaucoup avant de se multiplier, circonstance rendue nécessaire par la rapidité excessive de multiplication de leurs ancêtres, les spermatogonies.

En tout cas, en employant la terminologie de BOVERI, je n'entends pas souscrire à la doctrine qu'elle implique concernant l'homologie stricte des spermatides et des globules polaires des œufs. C'est-à-dire que je n'entends pas affirmer que les spermatocytes I ne se divisent qu'une seule fois et qu'il en est de même des spermatocytes II. Il se peut bien qu'il en soit ainsi; mais je n'ai pas pu en avoir la preuve.

ce n'est qu'ils sont de plus petite taille et qu'ils se divisent selon un autre type de cinèse.

5° Les spermatides ou cellules spermatiques qui ne se diviseront plus, mais se transformeront directement en spermatozoïdes.

Un mot sur le degré de certitude qu'il convient d'attribuer aux résultats qui vont être exposés! L'ordre de succession attribué aux trois catégories de cellules que je vais décrire est absolument certain. Il s'établit d'une façon très simple. Si nous examinons la glande génitale de sujets très jeunes, par exemple d'escargots dont la coquille ne mesure pas plus d'une dizaine de millimètres en diamètre, nous trouvons qu'à part les cellules sexuelles primordiales, elle ne renferme que des cellules ayant les caractères que nous allons attribuer aux spermatogonies. Cela nous permet du coup d'établir les spermatogonies comme tête de ligne. Passons maintenant à l'autre bout de la série, et prenons un escargot adulte au mois de mai ou de juin, et cherchons un follicule où se trouvent des spermatides se transformant en spermatozoïdes. Les caractères des spermatides sont fort marqués. Avec un peu d'attention, on arrive à les reconnaître à l'état de jeunes cellules-filles en reconstruction de leurs noyaux, et à établir ainsi de quelle sorte de cellules elles sont issues. Cela nous permet de reconnaître et de définir les spermatocytes II. Il n'en faut pas davantage pour établir la succession des trois cinèses, car il est évident que les spermatocytes I doivent venir se placer entre les deux cinèses ainsi établies, supposition qui se confirme pleinement par l'étude des diverses phases de l'histoire de ces éléments.

La sériation des phases des trois cinèses n'est pas moins solidement établie. Voici le principe de dialectique qui permet d'établir la succession des phases pour chaque cinèse. Il est facile de constater qu'une seule et même colonie ne porte jamais que des cellules d'une seule catégorie. En conséquence, toutes les figures cinétiques observées dans une même colonie sont des phases d'une même cinèse. De plus, toutes les cellules d'une même colonie se trouvent en général au même stade approximativement de la cinèse : non pas exactement à la même phase, comme l'a dit ZIMMERMANN, mais approximativement. Ainsi, je ne me rappelle pas avoir jamais vu une colonie contenant en même temps des cellules au repos et des cellules au stade équatorial. Mais on en trouve qui contiennent en même temps des cellules au repos et d'autres qui montrent les débuts de la cinèse. On en trouve qui montrent en même temps la phase de peloton segmenté et une phase qui conduit directement à la couronne équatoriale. Et j'ai trouvé dans

une même colonie des couronnes équatoriales, des métacinèses et des anaphases montrant les chromosomes-filles arrivés à la position polaire ou à peu près. L'étude attentive d'un grand nombre de semblables images permet d'établir la sériation des images sans aucune lacune.

Les descriptions suivantes ont trait en premier lieu aux cellules de l'*Helix pomatia* : j'y ai joint cependant quelques figures tirées de l'*Helix hortensis*. J'ai examiné plusieurs autres espèces de *Helix*, et j'ai toujours trouvé les mêmes images chez chacune d'elles. Si j'ai choisi comme thème de ce travail l'*Helix pomatia*, cela a été surtout parce que c'était cette espèce qui a fait l'objet des travaux de PLATNER, de PRENANT et de ZIMMERMANN, et qu'il m'a paru désirable que mes résultats pussent être comparés strictement à ceux de ces auteurs. Le lecteur cependant qui désirerait contrôler mes assertions, et qui ne disposerait pas d'exemplaires de *Helix pomatia*, pourra en toute sécurité, pour la plupart du moins des problèmes en question, s'adresser à l'espèce cosmopolite *Helix hortensis*, à condition de sacrifier au printemps les exemplaires destinés à l'étude. Cette espèce possède des cellules tout aussi belles que celles de l'*Helix pomatia* : il me semble même que ses spermatogonies sont plus grandes. Mais il y a un inconvénient. Cette espèce est infestée, du moins dans la localité où ce travail a été fait, par les formes larvaires, Rédies et Cercaires (*Cercaria armata*), du distome, *Distomum caudatum*. Ces parasites se trouvent d'abord dans la cavité péritonéale, et de là gagnent plus tard la glande génitale. Jusqu'à mi-mai, ils font défaut ou sont peu nombreux : mais pendant les mois d'été, on est exposé à les trouver pullulant en une telle abondance que la glande génitale en est envahie au point de nuire beaucoup à la netteté des préparations : elle en est même quelquefois envahie au point de subir la castration complète.

Le présent mémoire forme la troisième partie d'une série de travaux destinés à faire connaître les résultats de mes recherches sur la spermatogénèse des gastéropodes pulmonés. Dans les deux mémoires précédents (1), j'ai traité avec détail la question de l'origine, de la structure et du sort de la *figure achromatique* de la cinèse. Le terrain se trouvant ainsi déblayé, les pages suivantes pourront être consacrées en majeure partie à l'étude de la *figure achromatique* des trois cinèses.

(1) A. BOLLES LEE : *La régression du fuseau caryocinétique : Le corps problématique de PLATNER et le ligament intercellulaire de ZIMMERMANN dans les spermatocytes des Helix*; La Cellule, XI, 1, 1895, p. 28; et *Sur le Nebenkern et sur la formation du fuseau dans les spermatocytes des Helix*; Ibid., XI, 2, 1897, p. 224.

CHAPITRE I.

Les spermatogonies

Les spermatogonies, FIG. 1, *spg.*, et FIG. 3 à 29, sont des éléments de taille extrêmement variable. Les plus petites mesurent moins de 4 μ de diamètre, les plus grandes dépassent 20 μ . Elles sont en général piriformes, mais elles peuvent être sphériques ou à peu près. Si dans la plupart des figures les cellules paraissent sphériques, cela tient surtout à ce qu'il ne m'a pas toujours été possible de choisir pour le dessin des cellules se présentant avec leur grand axe dans le plan de la coupe.

Un caractère plus constant que celui de la taille, c'est le rapport de volume du noyau et du cytoplasme dans ces cellules. Dans une spermatogonie typique, c'est-à-dire appartenant aux générations intermédiaires entre les cellules sexuelles primordiales et les spermatocytes I, le volume du noyau est énorme par rapport à celui du corps de la cellule, et le peu de cytoplasme qui existe est d'une constitution extrêmement délicate, très hyalin, à élément réticulé très peu fourni, FIG. 3, 4 et 6 à 29. On rencontre même souvent des spermatogonies qui paraissent être tout en noyau, dans lesquelles on ne distingue plus du tout de cytoplasme. Cependant ce ne sont pas là des cellules dégénérées, incapables de se diviser : j'ai rencontré des cellules en pleine phase équatoriale, dans lesquelles il était impossible de distinguer le moindre cytoplasme.

Mais cette réduction si frappante de l'élément cytoplasmique n'est pas un caractère obligé de toutes les spermatogonies. On comprend bien que les cellules de la dernière génération des spermatogonies, — celles qui deviendront des spermatocytes I et pour lesquelles j'ai suggéré le nom d'*Auxocytes*, — on comprend bien que celles-ci, à mesure qu'elles revêtent le caractère de spermatocytes, se garnissent d'un cytoplasme abondant. De même, la première génération du moins, issue des cellules sexuelles primordiales, possède un cytoplasme normal, FIG. 5. Ce ne sont que les nombreuses générations intermédiaires, apparemment épuisées par la rapidité de leur multiplication, qui se montrent si pauvres en cytoplasme. Ce sont ces générations intermédiaires qu'on peut considérer comme typiques, et que nous aurons surtout en vue dans le cours de la description suivante.

Il est un autre caractère des spermatogonies qu'il convient de mentionner ici, comme étant peut-être en rapport avec leur pauvreté en cytoplasme. C'est que, si elles possèdent une membrane cellulaire, celle-ci est toujours extrêmement mince : je ne saurais même pas assurer qu'il en existe toujours une. Ainsi, dans la cellule de la FIG. 3, mes notes disent *membrane cellulaire à peine visible*; et pour les cellules des FIG. 4 et 5, *point de membrane cellulaire* (les contours de ces cellules ont été rendus trop fortement à la gravure). La membrane nucléaire est normalement constituée.

Le noyau des spermatogonies piriformes est situé dans leur portion élargie, laquelle se trouve dirigée vers la lumière de la glande. Dans la portion basale de la cellule se voit souvent un *Nebenkern*, et souvent aussi un reste fusorial ou pont fusorial unissant deux cellules-sœurs, FIG. 4, 5, 8, 10, 11 et fig. 3 de mon travail *La Régression du Fuseau*. L'un et l'autre de ces éléments sont constitués comme il a été décrit dans mes deux travaux antérieurs, mais ils sont plus petits et surtout beaucoup plus délicats que dans les spermatocytes; il est souvent très difficile et quelquefois impossible de les démontrer.

Le cytoplasme des spermatogonies peut contenir un ou plusieurs granules colorables par l'hématoxyline au fer, et dont il sera question dans le chapitre consacré aux *corpuscules polaires*.

Les spermatogonies possèdent un stade de repos parfaitement bien marqué et parfaitement normal, FIG. 3 à 5. Le noyau en cet état montre la structure typique des noyaux quiescents : un élément nucléinien filamenteux, assez faiblement chromatique, plongé dans un caryoplasme apparemment très finement granuleux et se teintant faiblement dans les préparations fixées par les mélanges osmiques et colorées par les anilines basiques ou par l'hématoxyline; puis un ou plusieurs nucléoles plasmatiques. Ces cellules se trouvent en abondance dans toutes les préparations, et j'avoue que je ne comprends pas comment il s'est fait qu'elles aient échappé à PLATNER et à ZIMMERMANN. Dans la cellule parfaitement au repos, le fond du noyau est sombre, et l'on n'y distingue pas de tache centrale claire.

Le premier symptôme d'une cinèse imminente s'observe, si je ne me trompe, par l'apparition d'une tache claire dans le fond sombre du noyau, FIG. 4 à 6. Cette tache se montre le plus souvent comme une simple tache irrégulière ou sphérique sans contour arrêté, FIG. 6. Mais dans certaines cellules au contraire, avec beaucoup d'attention, on arrive à lui discerner, FIG. 5, une figure allongée de fuseau ou de navette, en même temps qu'un

contour plus arrêté et un aspect brillant et réfringent, qui indique qu'on a devant soi un corps solide et non une vacuole. Il est possible que ce corps puisse correspondre au *fuseau central* de HERMANN chez les amphibiens. Mais comme je n'ai pas pu établir une homologie parfaite entre ces deux formations, je préfère appeler le corps en question *corps hyalin*. Je pense qu'il a en général la forme allongée de la FIG. 5, et que lorsqu'on n'aperçoit qu'une tache irrégulière ou ronde, comme dans la FIG. 6, c'est ou bien que le corps allongé se présente alors par le bout, ou bien que ses contours sont masqués par le développement autour de lui d'une substance hyaline semblable à celle dont il est lui-même composé, mais moins dense. Il est parfaitement homogène, on n'y aperçoit aucune fibrillation ni même aucune striation.

La tache claire représentée par l'ensemble du corps hyalin et de la substance hyaline qui l'entoure (ou par celle-ci seule, si le corps hyalin peut faire défaut) grandit, FIG. 6 et 7, et bientôt elle a envahi tout le noyau, qui ne présente plus alors de trace de fond sombre, FIG. 8 à 16. Pendant ces stades, j'ai perdu de vue jusqu'à présent le corps hyalin, que je soupçonne être caché dans la substance claire englobante; mais je l'ai retrouvé au stade équatorial, FIG. 18 à 20, dans les couronnes polaires, FIG. 29, et même dans des noyaux-filles déjà munis d'une membrane, FIG. 4 de mon travail *La Régression du Fuseau*. En effet, la tache claire ronde que j'ai dessinée dans le noyau de cette figure, sans la comprendre, n'est évidemment autre chose qu'un de ces corpuscules vu par le bout.

Ces phénomènes, le lecteur l'aura bien deviné, ne sont pour moi autre chose que l'expression des processus de métamorphose du noyau qui aboutissent à la *formation du fuseau*. Qu'il me soit permis de rappeler en quels termes généraux j'ai décrit (*Sur le Nebenkern et sur la formation du fuseau*, p. 229) la formation du fuseau dans les spermatocytes! L'histoire de cette formation, y est-il dit, peut être sommairement divisée comme il suit : *a*) transformation du caryoplasme réticulé et granuleux du noyau quiescent en une *substance spéciale*, parfaitement hyaline, sans granules et absolument achromatique; *b*) fibrillation de cette substance, c'est-à-dire production en son sein, par une différenciation ultérieure, de filaments de nature particulière, réfringents, homogènes et parfaitement achromatiques envers la plupart des colorants, qui deviendront les filaments fusoriaux; *c*) apparition des pôles du fuseau; et finalement, *d*) agencement des filaments fusoriaux, jusque là irrégulièrement distribués dans le noyau, en une figure fusiforme.

Je prie le lecteur de bien vouloir se reporter à la description détaillée

de ces processus, l. c., pp. 229 à 232. Cette description s'applique exactement à la formation du fuseau dans les spermatogonies, sauf par les deux points suivants. Je n'ai pas observé dans les spermatogonies la formation de ces points brillants que j'ai décrits comme étant les précurseurs des filaments fusoriaux dans les spermatocytes. Et la découverte du corps hyalin apporte un nouvel élément qu'il convient d'ajouter à mon ancienne description. Mais les deux processus n'en restent pas moins identiques, pour autant que je puis voir. La découverte du corps hyalin n'y change rien; car, comme nous le verrons plus tard, j'ai retrouvé ce corps également dans les spermatocytes. La seule différence que je puis noter entre le noyau des spermatogonies et celui des spermatocytes pendant l'élaboration du fuseau est que dans les spermatogonies la substance hyaline paraît être plus liquide que dans les spermatocytes, et avoir une grande tendance à se gonfler à l'état *post mortem*, ce qui donne à ces noyaux l'aspect vacuoleux caractéristique de la FIG. 12.

Pour en revenir aux débuts de la figure chromatique, à mesure que la substance claire se développe dans le noyau, il s'y débrouille avec toujours plus de netteté un élément chromatique filamenteux, FIG. 5 et 6. Il ne se forme pas de peloton nucléinien régulier, comme dans les cellules des amphibiens, et je ne me rappelle pas avoir jamais observé de peloton, même irrégulier, qui ne consistât qu'en un cordon unique. Ce qui se forme, c'est un filament ou cordon chromatique qui se segmente au fur et à mesure qu'il se débrouille de la masse inanalysable du noyau quiescent. Le stade de peloton est donc représenté ici par un certain nombre de filaments chromatiques, disons de six à douze, pour donner une idée des images les plus fréquentes, de diverses longueurs, et gisant sans ordre dans le noyau. Ils sont apparemment sans ordre, parce qu'ils ne forment pas à ce stade une figure régulière; mais l'ébauche d'une figure est cependant déjà manifeste, car par le développement de la substance hyaline les segments chromatiques sont rejetés, avec ce qui reste de caryoplasme non différencié, vers la surface du noyau, FIG. 6. Ces filaments sont grêles, mesurant environ 0,5 μ en diamètre, et irrégulièrement variqueux, FIG. 6.

L'élément nucléinien continue à se segmenter jusqu'à ce qu'il se soit produit le nombre voulu, c'est-à-dire 24, de segments de longueur approximativement égale. Ces segments se contractent, et en se contractant deviennent plus épais, FIG. 7. (Les segments de ce noyau mesuraient en moyenne 0,75 μ .) Ils prennent des positions plus régulières. Quelques-uns demeurent

encore étendus et se croisent pêle-mêle sans direction apparente; d'autres ont pris la forme d'anses et commencent à montrer une orientation définie, les bouts libres des anses, un peu incurvés, étant dirigés vers ce que j'appellerai le fond du noyau, c'est-à-dire cette partie du noyau qui regarde la portion basale de la cellule, FIG. 7 à 10. Les segments sont devenus maintenant plus régulièrement variqueux, ils se montrent composés de séries assez régulières de renflements globuleux, ou mieux biconiques, FIG. 7 et 8. De fins fils partent de ces filaments, ou s'y insèrent, et se perdent bientôt dans le caryoplasme.

Les anses chromatiques se contractent encore, leur orientation s'accuse davantage et toute la figure gagne en régularité, FIG. 8 et 10. Les anses, maintenant approximativement égales en longueur, sont toutes orientées avec une grande précision, leurs bouts libres occupant le fond du noyau et leurs sommets étant disposés avec assez de régularité autour de la substance hyaline du caryoplasme métamorphosé. On dirait d'une corolle de fleur, les pétales étant représentés par les anses chromatiques. Les nucléoles plasmatiques existent pour la plupart encore à ce stade, mais il n'est pas toujours possible de les apercevoir.

Les bouts libres des anses ne sont pas localisés en un espace étroitement circonscrit du noyau, mais en occupent une plage très étendue, à savoir tout le fond du noyau. Ce fait s'observe en toute évidence par l'étude des vues polaires, FIG. 9. Ces vues polaires permettent également de compter le nombre des anses avec une certitude approximative; ainsi dans la FIG. 9, on aperçoit 41 bouts libres, ce qui donne une vingtaine d'anses. Le chiffre normal, établi après un grand nombre d'estimations, est de 24.

Cette jolie figure en corolle de fleur est la figure de la cinèse des spermatogonies qui au premier abord attire le plus le regard. Elle est vraisemblablement de longue durée, car elle est très abondante dans les préparations, ce qui explique peut-être pourquoi PLATNER et ZIMMERMANN en avaient fait une figure de repos.

On ne peut s'empêcher de se demander la raison de cette orientation si régulière des bouts libres des anses vers le fond du noyau. PLATNER⁽¹⁾ avait attribué cette disposition à une attraction exercée par le *Nebenkern*, qui se trouve effectivement placé à ce moment vis-à-vis du fond du noyau. Mais cette supposition me paraît loin d'être satisfaisante. Il est possible que les

(1) PLATNER : *Ueber die Entstehung des Nebenkerne*, Arch. f. mik. Anat., XXVI, 1886, pp. 347, 348.

anses chromatiques soient à ce moment en rapport, d'une façon dont le détail nous est inconnu, avec le Nebenkern; mais cela n'est pas prouvé. Que le Nebenkern se trouve en cette portion de la cellule, c'est un fait qui s'explique facilement par une autre considération : il ne saurait guère être ailleurs! Les spermatogonies sont pour la plupart des cellules piriformes, et sont aussi, comme nous l'avons vu, des cellules qui ne sont munies que d'une quantité extrêmement petite de cytoplasme. Leur noyau très volumineux remplit à peu près toute la portion dilatée de la cellule, de sorte qu'il ne reste de place pour le Nebenkern que dans la partie basale. Il semble que pour le moment il est impossible d'expliquer cette curieuse orientation.

Avec l'établissement de la figure régulière de corolle de fleur, la substance hyaline a envahi tout le noyau, et il ne reste plus trace de cytoplasme non modifié, FIG. 8 et suivantes.

La phase suivante, FIG. 10 et 11, est celle de la scission longitudinale des anses chromatiques. Il est possible que cette scission soit préparée à un stade antérieur, mais en tout cas elle ne s'accuse avec netteté qu'au stade de corolle de fleur. Les anses se fendent sur toute leur longueur, je crois à peu près simultanément, FIG. 10, et produisent ainsi des anses secondaires grêles, ayant la moitié du diamètre des anses-mères, et présentant comme celles-ci des séries de renflements assez réguliers, FIG. 11.

Les anses secondaires ne restent pas juxtaposées et parallèles, mais, chose digne de remarque, *s'écartent l'une de l'autre*, FIG. 11, au point que dans un noyau à ce stade il n'est plus possible de reconnaître lesquelles sont les anses-sœurs, mais qu'au contraire on se trouve en présence d'un noyau contenant environ 48 anses apparemment indépendantes!! Ces anses apparemment indépendantes conservent encore pendant quelque temps leur orientation primitive vers le fond du noyau, FIG. 11.

La scission longitudinale peut, je crois, être différée jusqu'à la phase suivante, ou phase de l'éparpillement des anses; mais je ne suis pas tout à fait certain de cela.

La FIG. 12 représente une image qui est très commune dans certaines préparations et dont PLATNER et PRENANT avaient fait une phase particulière. Il n'en est cependant rien. Cette figure, qui représente un élément filamenteux chromatique pelotonné au fond du noyau au point qu'il est impossible d'en analyser le détail, n'est autre chose qu'une figure pathologique! Ce peloton chromatique indéchiffrable n'est autre chose que l'ensemble des anses de la figure en corolle, soit à l'état de scission, soit à l'état d'anses

primaires, toutes rétractées au fond du noyau. Que cette rétraction soit un phénomène pathologique et non un phénomène physiologique, c'est ce dont j'ai pu m'assurer de la façon la plus positive. En observant des cellules vivantes, maintes et maintes fois j'ai vu se dérouler sous mes yeux le phénomène suivant. On voit les anses, d'abord largement étalées en pétales, se rétracter peu à peu, et à la fin s'agglomérer en une masse informe au fond du noyau. Le phénomène de la rétraction dure de vingt minutes à plusieurs heures. Les cellules au stade de corolle, qui se trouvent dans de bonnes conditions dans la préparation, peuvent conserver leur figure intacte pendant de longues heures, tandis que celles qui se trouvent dans de mauvaises conditions passent rapidement à l'état rétracté de la fig. 12.

Abandonne-t-on une dissociation très longtemps, par exemple douze à dix-huit heures, sur le porte-objets, on trouvera à la fin de ce temps que l'immense majorité des spermatogonies du stade de corolle auront revêtu cette forme caractéristique. C'est une figure léthale. Il va sans dire que ces figures sont particulièrement abondantes dans les préparations mal fixées; j'ai l'habitude de rejeter comme impropres à l'étude toutes les préparations qui les montrent en quantité considérable.

Avec la scission longitudinale des anses chromatiques et l'écartement des anses-filles de manière à donner des anses secondaires apparemment libres, nous sommes encore loin de la couronne équatoriale; il y a encore deux ou trois phases assez nettement caractérisées à parcourir.

La première de ces phases, peut-être pour nous la plus importante des phases de cette cinèse, c'est la *phase de l'éparpillement des anses*. Elle consiste en ce que les anses secondaires abandonnent leur orientation vers le fond du noyau, leurs branches s'ouvrent, leurs extrémités s'écartent l'une de l'autre, elles deviennent des filaments plus ou moins rectilignes, et ces filaments sont jetés sans ordre apparent à travers la masse générale du noyau, fig. 13 et 13 bis. Il semble qu'en ce faisant les filaments tendent à s'étendre autant que possible, et qu'ils le font jusqu'à ce que leurs extrémités viennent heurter contre la membrane nucléaire, souvent, mais pas toujours, en des points diamétralement opposés du noyau. Cependant cette figure est très difficile à analyser, et je ne voudrais pas assurer qu'un degré modéré d'écartement ne soit pas plutôt la règle, les filaments conservant ainsi leur caractère d'anses, mais d'anses plus ouvertes. En tout cas, je crois que leurs extrémités viennent buter contre la membrane nucléaire *et y adhèrent*.

Le point sur lequel je dois insister ici, c'est la *séparation absolue* en

apparence des anses-sœurs issues d'une même anse-mère, l'une de l'autre. L'ordre exquis qui régnait dans la phase en corolle de fleur a été abandonné, et à sa place règne un enchevêtrement désordonné de filaments, dans lequel il est impossible de discerner la moindre trace de la disposition primitive, et dans lequel surtout il est impossible de trouver le moindre motif pour admettre que les anses-sœurs ont gardé entre elles des rapports quelconques indiquant leur communauté d'origine. L'œil n'aperçoit dans ces images rien qui fasse penser qu'on se trouve en présence d'éléments réunis par paires. On ne voit que des filaments parfaitement isolés et indépendants, et l'on ne peut reconnaître dans la disposition de ces filaments isolés aucun rapport de position, aucun rapport par exemple d'orientation ou de parallélisme, qui fournisse le moindre prétexte pour leur attribuer une distribution par paires. On n'aperçoit non plus entre ces filaments isolés et éparpillés sans ordre aucune trace de connexions anatomiques, telles que lames ou filaments tendus entre eux qui serviraient de liens rappelant leur connexité originelle et propres à les réunir plus tard, dans la couronne équatoriale, en groupes binaires de segments-sœurs. On dirait au contraire, en regardant ces singulières images, que l'effet de la tumultueuse dislocation dont nous sommes témoin doit être d'effectuer le divorce définitif de la plupart des couples originaux, et de réaliser un remaniement aussi complet que possible de l'ancien ordre de disposition des éléments chromatiques du noyau!

En même temps que les anses chromatiques libérées s'ouvrent et s'étendent comme nous venons de le dire, elles commencent à s'effiler vers leurs bouts et à s'épaissir vers le milieu. On aperçoit déjà les débuts de ce changement de forme dans la *FIG. 13*, il est encore plus manifeste dans les *FIG. 14* et *15*. Les anses s'étant ouvertes largement de façon à devenir plus ou moins rectilignes, il en résulte que leurs portions centrales se croisent abondamment dans la région centrale du noyau, et les bouts libres étant dirigés sans distinction dans toutes les directions, nous avons comme résultat une figure plus ou moins stellaire, *FIG. 14*.

Les bouts libres, adhérant maintenant pour la plupart à la membrane nucléaire, continuent à s'effiler et en même temps les portions centrales s'épaississent toujours davantage. Il en résulte que vers le centre du noyau les segments sont si étroitement tassés qu'il est impossible d'analyser l'image qu'ils présentent, car souvent ils sont si serrés en cet endroit qu'ils paraissent être fondus en une masse indivise de chromatine. De cette masse

centrale partent alors en rayonnant les bouts libres, qui, là où ils arrivent à buter contre la membrane nucléaire, sont tout à fait distincts. Nous avons à ce moment une image stellaire qui rappelle celle d'une roue, la masse centrale étroitement tassée représentant le moyeu, et les bouts libres adhérents à la membrane représentant les rayons, FIG. 14.

Le processus de concentration de la substance des segments chromatiques vers leurs centres, avec amincissement simultané de leurs extrémités, continuant toujours, nous obtenons l'image représentée par la FIG. 15, image qui laisse facilement reconnaître qu'il n'y a qu'un pas de plus à faire dans cette voie pour que nous n'ayons plus désormais devant nous des *segments chromatiques*, mais des *chromosomes achevés* (1).

En effet, la masse centrale est composée maintenant de petits chromosomes assez trapus, assez réguliers et lisses, ayant une forme de V, et dont les bouts sont réunis à la membrane nucléaire par des filaments pâles et minces, FIG. 15. Ces filaments se brisent, la membrane nucléaire, jusqu'alors parfaitement distincte, disparaît (ou bien, peut être devrait-on dire, la membrane nucléaire se résout, ce qui brise naturellement les filaments qui la reliaient aux chromosomes), et les chromosomes devenus libres demeurent plongés dans la masse hyaline fusoriale du noyau au centre de la cellule, FIG. 16 à 18.

De ce qui a été dit du mode de formation des groupes d'éléments nucléiniens ainsi libérés dans la cellule, il résulte qu'ils ont été formés par la concentration au centre du noyau de 48 éléments nucléiniens, chromosomes ou demi-chromosomes comme on voudra. On s'attend naturellement en conséquence à pouvoir constater le chiffre de 48 éléments dans ces groupes précurseurs de la couronne équatoriale, FIG. 16 à 18. Je n'y ai jamais réussi. J'y ai constaté souvent un chiffre apparemment bien supérieur à 24. Ainsi, pour la cellule de la FIG. 17, mes notes disent « apparemment beaucoup plus de 24 chromosomes » ; et dans la FIG. 16 j'en ai dessiné certainement plus de 24. Cette figure explique, je crois, assez bien la difficulté qu'il y a à faire ces numérations. Les éléments y paraissent être rapprochés par paires, même souvent être collés ensemble par paires ; de sorte que

(1) C'est, je crois, BRAUER qui a proposé d'appeler *segments chromatiques* les tronçons primordiaux, encore inégaux et hérissés d'aspérités, qui résultent de la segmentation du boyau nucléinien, et de réserver la dénomination de *chromosomes* aux éléments plus réguliers, plus compacts et plus lisses auxquels les segments se réduisent avant d'entrer dans la couronne équatoriale, en un mot à leur forme définitive et achevée. Cette distinction me paraît utile.

l'observateur doute constamment pour savoir s'il doit interpréter tel ou tel groupe binaire comme un seul élément ou comme deux. Il paraît impossible de ne pas en conclure qu'à ce stade les 48 éléments isolés ou apparemment isolés de la phase de l'éparpillement se rassemblent en 24 groupes binaires. Mais quant au mécanisme par lequel ce rassemblement s'effectue, je n'ai pas pu le dévoiler. Naturellement il est impossible de décider par l'observation si les groupes binaires ainsi formés sont composés chacun d'éléments-sœurs, c'est-à-dire si les éléments-sœurs séparés par la phase de l'éparpillement se retrouvent réunis dans la couronne équatoriale, ou si les nouveaux groupes binaires sont formés en partie d'éléments hétérogènes. Tout indice de liens quelconques entre les segments pendant la phase d'éparpillement faisant défaut, c'est cette dernière supposition qui paraît de beaucoup la plus probable.

Les chromosomes sont jetés sans ordre à travers l'espace qui auparavant était occupé par le noyau. Cependant, on distingue souvent en leur milieu un espace clair, sorte de méandre informe, qu'ils paraissent éviter, *FIG. 16*. Et dans des cas heureux je suis arrivé à distinguer plusieurs fois au milieu de la masse dense des chromosomes, *FIG. 18*, le corps hyalin dont l'existence a été signalée plus haut pendant les premières prophases.

Nous approchons de la couronne équatoriale. Un fuseau très délicat se dessine. J'ai pu constater plusieurs fois que son axe était occupé par le corps hyalin, un peu allongé et atténué, *FIG. 19*. Au-delà des pôles du fuseau, on aperçoit souvent deux entonnoirs polaires ou cônes antipodes de VAN BENEDEN, mais la différenciation du cytoplasme ne paraît pas aller plus loin que cela; quelquefois autour des entonnoirs on entrevoit un très faible rayonnement du cytoplasme, mais jamais dans les spermatogonies je n'ai constaté d'asters formels. On dirait que leur cytoplasme est trop faible pour pouvoir en fournir. Quelquefois, à côté des entonnoirs polaires, on aperçoit un corpuscule polaire, *FIG. 19 en c*. Les chromosomes sont maintenant arrangés sur ce fuseau en une sorte d'étoile irrégulière, *FIG. 19*.

On pourrait être fortement tenté de penser que cette image, qui est très commune dans les coupes, représente la couronne équatoriale. Ce serait, je crois, une erreur. Car, si je ne me trompe, la véritable couronne équatoriale, image très rare, présente l'apparence de la *FIG. 20*.

Elle se distingue par une régularité très grande, tout aussi grande que dans n'importe quelle couronne équatoriale des plus régulières. Les chromosomes se sont régularisés complètement sous le rapport de leurs formes

et de leurs dimensions. Ils sont devenus approximativement égaux, au lieu de présenter les irrégularités frappantes de taille qu'on leur reconnaît dans la couronne non encore régularisée, c'est-à-dire dans les figures comme celle de la FIG. 19, et ils ont pris une forme de V assez régulière. Ils sont très étroitement serrés ensemble en un disque régulier, qui n'est interrompu que sur un petit espace central pour livrer passage au corps hyalin (si tant est que celui-ci existe d'une façon constante), FIG. 20. Ils sont même le plus souvent si étroitement juxtaposés dans ce disque que le tout donne l'impression d'une bande ininterrompue de substance chromatique, dont la tranche serait évidée en une dépression annulaire, à fond anguleux, seulement reconnaissable aux bords de la figure. C'est seulement dans des couronnes exceptionnellement ouvertes, comme celle de la FIG. 20, qu'on arrive à résoudre cette masse compacte en des éléments en V.

Quelle est la position de ces éléments dans la couronne? Un regard jeté sur la figure montrera qu'il n'est pas facile de répondre avec certitude à cette question. Les images qu'on obtient pourraient ou bien être l'expression optique d'une *seule* série de paires de V très ouverts et disposés dans la couronne avec leurs sommets dirigés vers le centre et leurs branches orientées *selon les plans des méridiens* du fuseau; ou bien elles pourraient être l'expression de *deux* séries de V, juxtaposés par leurs sommets, ayant ces sommets dirigés vers le centre, et ayant leurs branches tournées en dehors, non orientées sur les méridiens, mais dirigées de façon à se trouver dans une succession de plans faisant chacun seulement *un petit angle avec le plan équatorial*. En d'autres termes, selon cette interprétation, les V seraient couchés *dans le plan équatorial*, si ce n'était que leurs pieds sont un peu tirés vers les pôles de la figure. C'est cette disposition que j'ai voulu représenter par le schéma, FIG. 72. C'est bien cette interprétation que je préfère, tant d'après l'étude de ces images que d'après la considération des processus que nous avons appris à connaître comme conduisant à l'établissement de la couronne équatoriale, c'est-à-dire des processus des phases d'éparpillement.

Le fuseau de ces figures est régulier, mais de forme assez variable. Il peut-être très grêle et allongé, comme dans la FIG. 19, ou à peu près globulaire, comme dans la FIG. 20, ou bien encore plus déprimé et fortement aplati aux pôles. Au-delà des pôles, on aperçoit souvent, comme il a été dit, un faible rayonnement dans le cytoplasme, indiquant la présence d'une ébauche d'entonnoirs polaires ou cônes antipodes de VAN BENE-

DEN. Mais souvent aussi les pôles viennent buter immédiatement contre la membrane cellulaire, comme dans les FIG. 24, 26 et 28. En ce cas, il n'y a rien au-delà, et les entonnoirs polaires, s'ils ont existé, se sont effacés. J'ai même vu des fuseaux dont les pôles, fortement acuminés, faisaient formellement saillie au-delà de la surface géométrique de la cellule : circonstance qui pourrait, semble-t-il, donner à réfléchir aux savants qui admettent que les pôles des fuseaux sont constitués par des *centrosomes* ayant pour mission d'attirer les chromosomes vers la région polaire. Évidemment en ces cas il ne pourrait y avoir de corpuscule pareil dans le prolongement de l'axe de la figure. Mais j'ai souvent observé des *centrosomes* ou corpuscules polaires situés à côté de la région polaire, FIG. 19 et 20.

Le fuseau est en tous les cas d'une structure extrêmement délicate, ses filaments sont très fins et très pâles. Dans son axe, j'ai souvent constaté la présence d'un corps hyalin, brillant et homogène, FIG. 20.

L'étude de la métacinèse, c'est-à-dire de la dislocation de la couronne équatoriale, confirme l'interprétation de la structure de cette couronne à laquelle nous nous sommes arrêté plus haut ; — c'est-à-dire que la couronne doit être composée de chromosomes en *V superposés* dans le plan équatorial et non *juxtaposés* dans les plans des méridiens. Les chromosomes se séparent d'une façon assez régulière, non pas il est vrai avec une régularité parfaite, mais toutefois sans montrer avec une abondance suffisante ces images de changement d'orientation qui en résulteraient, si dans la couronne ils avaient été orientés dans les plans des méridiens. Nous n'entendons pas nier que des mouvements de rotation ou de renversement partiel ne se produisent (car il s'en produit, voyez les FIG. 21 et 22) ; mais l'impression générale que produisent les images de cette phase, c'est que les chromosomes sont simplement attirés vers les pôles par l'angle du V, ne subissant d'autre changement d'orientation que le renversement partiel qui résulte de ce fait ; — c'est-à-dire qu'au lieu de se trouver avec leurs sommets dirigés vers le centre de la figure, ces sommets sont maintenant dirigés vers les pôles et se trouvent en conséquence être situés plus haut que les bouts libres, ainsi que cela se trouve être le cas le plus souvent dans les cinèses ordinaires.

Les deux bataillons de chromosomes s'éloignent l'un de l'autre avec assez de régularité et marchent vers les pôles en se déployant en deux bandes larges qui remplissent souvent la majeure partie de la cellule, FIG. 21 et 22. Les images de cette phase varient du reste beaucoup selon le plus ou moins d'abondance de la chromatine dans les différentes cellules. C'est

pourquoi il m'a semblé utile de mettre sous les yeux du lecteur les FIG. 21 à 26, qui serviront, je pense, à faire reconnaître les apparences variées que peuvent présenter les cellules de ce stade. C'est pendant le stade de la FIG. 21 que dans des cellules favorables on peut compter les chromosomes et constater qu'il y en a 24 environ dans chaque groupe.

Les couronnes polaires, auxquelles ces figures nous ont déjà conduit, sont le plus souvent très étroitement tassées, et en ce cas peuvent se présenter sous la forme de bandes compactes de chromatine, dans lesquelles il est difficile de constater l'existence de chromosomes isolés, FIG. 27 et 28. Mais dans d'autres cellules, les anaphases sont beaucoup plus ouvertes, et l'on peut assister à quelques-uns des détails de la réédification des noyaux-filles, FIG. 29. On constate alors qu'à ce moment les chromosomes perdent leur figure régulière de V, s'amincissent et deviennent plus grêles, comme s'ils abandonnaient une partie de leur substance. Que ce soit en réalité parce qu'une partie de leur substance se liquéfie et les abandonne à ce moment, ou que ce soit simplement parce qu'ils se contractent en une masse plus compacte, c'est ce que je ne puis pas décider; mais il me semble certain qu'à ce moment ils deviennent plus petits. En même temps, leurs contours, de lisses qu'ils étaient, deviennent granuleux, hérissés, et paraissent émettre des fils. Enfin les corps irréguliers qui résultent de ces changements paraissent se réunir en une figure floïde, *spirème* ou réseau, je ne puis dire laquelle, FIG. 29.

Dans ces figures, j'ai plusieurs fois constaté l'existence d'un corps hyalin central, brillant, homogène et achromatique, FIG. 29. Et comme on en peut constater un dans chaque noyau-fille, je pense que le corps hyalin originel s'étrangle en son milieu au moment de la dislocation de la couronne et que ses deux moitiés se rendent aux pôles avec les chromosomes.

Le reste du fuseau s'étrangle en formant une plaque fusoriale, FIG. 29, ainsi que je l'ai décrit et figuré dans mon travail *La Régression du Fuseau*, FIG. 1 à 5. Puis les filaments connectifs se coupent près des nouveaux noyaux et se retirent vers la plaque fusoriale, pour former dans la suite un reste fusorial compact qui persiste en formant un trait d'union entre les deux nouvelles cellules, ainsi que je l'ai décrit et figuré dans le travail cité.

La division du noyau n'est pas toujours suivie de près par la division du cytoplasme chez les spermatogonies; la formation de cellules à deux ou à plusieurs noyaux est extrêmement commune dans cette sorte de cellules. Mais ces cellules bi- ou multi-nucléées ne m'ont pas paru présenter un

intérêt particulier, et il me semble qu'il suffira que j'en fasse mention pour mémoire.

Le trait le plus remarquable de la cinèse que nous venons de passer en revue, c'est assurément la possession de cette curieuse *phase de l'éparpillement* des segments nucléiniens secondaires. C'est la présence de cette phase qui fait que cette cinèse se différencie nettement des cinèses ordinaires. C'est une phase nouvelle, greffée sur des phases qui sans cela se ramèneraient assez bien à celles d'une cinèse ordinaire. Elle a vraisemblablement pour effet, comme nous l'avons dit, d'effectuer le divorce définitif des éléments-sœurs résultant de la scission longitudinale des segments chromatiques primordiaux et d'assurer que ces éléments ne se retrouvent pas tous ensemble dans la couronne équatoriale. C'est le contre-pied absolu de ce qui a lieu dans la cinèse suivante, celle des spermatocytes I. Car dans celle-ci, comme nous allons le voir, non seulement les éléments-sœurs résultant de la scission longitudinale demeurent réunis, mais en le faisant ils se fusionnent complètement ensemble en un chromosome unique qui ne présente plus trace de dimidiation.

CHAPITRE II.

Les spermatocytes I.

Les spermatocytes I sont, à l'encontre des spermatogonies, des cellules toujours très grosses et d'une facture très robuste. Comme toutes ces cellules, elles sont pour la plupart piriformes, et souvent très longuement pédiculées, FIG. 1, 30, 42. Elles mesurent en moyenne selon leur petit axe de 25 μ à 30 μ , et beaucoup plus selon leur grand axe. Ainsi la cellule de la FIG. 30 mesure 60 μ de longueur, et j'en ai rencontré qui avaient près de 100 μ . Leur cytoplasme est assez dense, à réticulum puissant, assez régulier, à mailles fines et régulières. Il est toujours très abondant par rapport au volume du noyau. Il contient dans la règle un Nebenkern volumineux et robuste, et non petit et délicat comme celui des spermatogonies; il présente aussi en général un ou plusieurs restes de fuseaux, qui se montrent sous la forme d'un simple moignon, par exemple FIG. 30, ou d'un pont reliant deux cellules, FIG. 39, 39 bis et 42. Il peut contenir en outre des débris d'anciens fuseaux dissociés en leurs éléments constitutifs et éparpillés dans le cytoplasme sous la forme de petits bâtonnets courbés, FIG. 35 et 44. Il contient également très souvent, mais nullement d'une manière constante, des traînées volumineuses de granules ou de plaquettes(1). Ces enclaves se colorent intensément sur la cellule vivante par le bleu de méthylène, et prennent une teinte sombre dans les préparations fixées par le mélange de FLEMMING. Elles affectent très souvent la disposition d'une longue bande, qui entoure totalement ou partiellement le noyau, FIG. 35 (la bande s'y montre en coupe, on en voit la section à gauche de la figure). Ce sont ces granules qui, dans l'opinion de PRENANT, *op. cit.*, serviraient à former le Nebenkern par un processus de condensation. J'ai déjà montré, dans mon travail *Sur le Nebenkern et sur la Formation du Fuseau*, qu'il n'en est cependant rien, et que le Nebenkern a une origine tout autre. J'ai dit dans le travail cité, p. 241 : « Je connais très bien ces granules, et je puis assurer qu'ils ne servent pas à former le Nebenkern, car on les voit en masse à côté de lui. » En effet,

(1) « Cytomicrosomes » de PRENANT : La Cellule, t. IV, 1^{er} fasc., 1888, p. 137.

il en est ainsi, et la fig. 35 en témoigne. On y aperçoit un croissant, coupe d'une bande puissante de ces granules, bande qui entoure presque tout le noyau; et à côté, un Nebenkern en état de dégénérescence marquée, représenté seulement par quelques bâtonnets, c'est-à-dire quelques restes de filaments fusoriaux, en train de s'éparpiller et de se dissoudre dans le cytoplasme... J'ai étudié toutes ces enclaves avec beaucoup de détail dans mes deux travaux antérieurs, et je prie le lecteur de bien vouloir s'y reporter.

Le cytoplasme des spermatocytes contient aussi souvent, mais non, je pense, d'une manière constante, certains granules ou microsomes spéciaux, *c*, dans les figures. Ces corps représentent, je pense les *centrosomes* des auteurs. Mais comme ils ne paraissent jouer aucun rôle mécanique dans la cinèse, il suffira de les mentionner ici pour mémoire, et d'en réserver l'étude plus détaillée pour le Chapitre IV.

Le noyau au repos des spermatocytes I ne présente aucun caractère particulier qui doive nous arrêter. J'ai déjà figuré un de ces noyaux dans mon travail *Sur le Nebenkern*, fig. 1, et je prie le lecteur de bien vouloir s'y reporter. J'ai décrit ces noyaux, op. cit., p. 230, comme possédant un élément chromatique filamenteux uniformément répandu à travers toute l'épaisseur du noyau, et plongé dans un caryoplasme consistant en un réticulum achromatique et un enchylème finement granuleux contenu dans les mailles de ce réticulum. J'ai ajouté que ces noyaux ont un certain aspect sombre et mat dans les coupes, aspect dû à la coloration partielle par les réactifs de ces deux éléments *achromatiques*, du réticulum plastinien et de l'enchylème granuleux qui l'enrobe. Enfin, j'ai ajouté qu'ils contiennent deux ou trois nucléoles plasmatiques, dont le plus gros ou les deux plus gros se montrent souvent entourés d'une auréole claire, au milieu de laquelle ils sont comme suspendus par des fils rayonnants, fig. 1 et 2, op. cit., et fig. 30 et 32.

Ces noyaux se trouvent par milliers dans toutes les coupes. Je ne puis vraiment pas m'expliquer comment il se soit fait qu'ils aient échappé à ZIMMERMANN, qui décrit le noyau au repos comme ayant sa chromatine distribuée sous la forme d'amas (*Klumpchen*) arrondis et troués, c'est-à-dire sous la forme qu'elle prend dans une prophase très avancée, fig. 32 à 38.

Dans mon travail *Sur le Nebenkern*, j'ai expliqué en détail comment le caryoplasme réticulé et granuleux du noyau au repos subit une métamorphose hyaline qui le transforme en une substance spéciale, parfaitement homogène et sans granules, qui devient le fuseau. J'y ai dit que le début

de la métamorphose hyaline est marqué par l'apparition dans la masse sombre du caryoplasme d'un espace ou plutôt d'un corps parfaitement clair et homogène (1) et ayant une forme sphérique ou ovale; et que la suite de cette métamorphose consiste en l'envahissement graduel de tout le noyau par cet élément clair. J'ai maintenant un fait nouveau à ajouter à cette description. En effet, le corps clair m'avait toujours paru alors être sphérique ou ovale. Mais depuis, il m'est arrivé nombre de fois de lui trouver assez nettement une forme de fuseau, de croissant ou de navette, FIG. 20, x. Comme dans les spermatogonies, ce corps est parfaitement homogène et ne montre aucune trace de fibrillation ni même aucune striation, et possède un aspect brillant et réfringent qui indique qu'on a devant soi un corps solide et non une vacuole. Comme il me paraît évident que ce corps correspond à celui que j'ai appelé *corps hyalin* dans les spermatogonies, je l'appellerai du même nom ici.

La première apparition de ce corps paraît coïncider avec le début des prophases de la cinèse, FIG. 30; je n'ai du moins jamais pu le mettre en évidence dans un noyau incontestablement au repos. Il paraît donc nécessaire d'admettre, du moins d'une façon provisoire, qu'il ne représente pas un élément permanent du noyau, mais qu'il se forme seulement lors de la différenciation du caryoplasme en substance hyaline fusoriale. Je n'ai pu constater son existence avec certitude que pendant les premiers moments des prophases et à la fin de la cinèse, au moment de la réédification des noyaux-filles. Il paraît probable que pendant les phases intermédiaires il est caché par la masse générale de substance hyaline moins dense, mais également claire, qui l'entoure. Quant à la question de savoir s'il se forme toujours, c'est un point qui demeure encore douteux pour moi.

L'évolution de la figure achromatique ayant été décrite avec détail dans mon mémoire *Sur le Nebenkern*, nous n'aurons plus à nous occuper maintenant que de la figure chromatique.

Comme dans les spermatogonies, la phase du pelotonnement ne paraît pas comprendre la formation d'un peloton ou spirème régulier, à un seul filament ou à un très petit nombre de filaments; ou du moins je ne le crois pas. De l'état confus et indéchiffrable du noyau au repos, FIG. 1 de *Sur le Nebenkern*, il se débrouille un élément chromatique certainement filamenteux, mais apparemment discontinu et consistant en un nombre considérable

(1) L. c., p. 230 et 231.

de tronçons, FIG. 30. Les tronçons de filaments qu'on aperçoit sont assez grêles, assez tortueux et enchevêtrés, et montrent une certaine tendance à affecter la forme d'anses et une certaine apparence d'orientation grossière autour d'un centre ou d'un pôle, FIG. 30. Ils se raccourcissent; et en se raccourcissant, ils deviennent plus épais. A mesure qu'ils se contractent et qu'ils s'épaississent, ils subissent la scission longitudinale, FIG. 31 et 32, et certains endroits des FIG. 33, 34, 35 et 37. A ce stade, on peut arriver à compter approximativement le nombre de segments nucléiniens : il est de 24, c'est-à-dire qu'il y a 24 segments divisés ou non en segments secondaires (1).

Les éléments nucléiniens, qu'on les considère avant ou après la scission longitudinale, sont de dimensions extrêmement variables, tant en longueur qu'en épaisseur. Les FIG. 31 à 34, dont tous les éléments ont été soigneusement mesurés avant d'être dessinés, en font foi, mais cependant pas d'une façon suffisante. La diversité est beaucoup plus grande que ne l'indiquent ces quelques figures. Cela suffit déjà pour donner à ces images un aspect assez compliqué. Il est une autre circonstance qui les rend encore plus compliquées et difficiles à comprendre. En effet, avant que le processus analytique, catabolique, de la scission longitudinale (voire même celui de la segmentation transversale) n'ait eu le temps de s'effectuer pour tous les éléments du noyau, les plus avancés de ces éléments sont déjà engagés dans la voie

(1) O. VOM RATH, dans son travail *Zur Spermatogenese von Gryllotalpa vulgaris Latr.*, Arch. f. mik. Anat., XL, 1892, p. 102, décrit comme il suit la division des spermatocytes I de l'*Helix pomatia*. Ces cellules, selon lui, montreraient à la cinèse 48 chromosomes, réunis par groupes de quatre. Ces groupes sont évidemment les tétrades dont nous allons parler. Comme t se fait-il que VOM RATH n'ait compté que douze de ces groupes, au lieu des 24 que j'ai trouvés? Je pense que VOM RATH a pu avoir devant lui des noyaux dans lesquels il y avait des tétrades déjà formées et en même temps des tronçons nucléiniens qui n'avaient pas encore subi la segmentation transversale; et que de cette façon il a bien pu avoir devant lui un total de douze amas nucléiniens environ. Mais ce chiffre réduit n'est qu'apparent; et je suis convaincu que si VOM RATH voulait bien se donner la peine de reprendre ses préparations, il n'aura pas beaucoup de difficulté à établir que, lorsque la segmentation transversale de l'élément nucléinien est définitivement terminée, le noyau contient une somme de 24 amas chromatiques, comme je l'ai dit, et non douze seulement. Les deux processus de segmentation et de formation de tétrades ne se suivent nullement d'une façon régulière; les premiers segments primaires qui ont été formés passent en effet à la formation de tétrades et d'ellipses longtemps avant que la segmentation de tout l'élément nucléinien du noyau n'ait été achevée, comme en témoignent suffisamment les FIG. 31 à 34. Du reste, VOM RATH peut très bien avoir mal compté, comme il l'a fait pour les spermatides. Car il ajoute que des 48 chromosomes qu'il admet, 24 sont distribués à chacun des noyaux filles par une première division réductionnelle; et que ce chiffre de 24 est réduit à 12 par une deuxième division réductionnelle. Or, comme nous allons le voir, ces réductions numériques n'existent pas, et les jeunes noyaux des spermatides reçoivent en partage 24 éléments, comme tous les autres noyaux de la série spermatogénétique.

d'un autre processus de nature contraire, d'un processus synthétique de conjugaison et de fusion.

En effet, à peine les segments-sœurs issus de la scission longitudinale se sont-ils séparés l'un de l'autre, que par des processus compliqués et difficiles à suivre ils se fusionnent de nouveau en un corps compact qui ne porte plus d'indice de la séparation originelle.

On pourrait peut-être distinguer deux modes d'après lesquels cette fusion s'opère : l'un, le plus ordinaire, qui débute par la soudure des bouts libres des segments, et l'autre qui débute par la soudure au milieu. Le premier mode donne lieu, comme forme de passage à l'élément définitif, à des figures d'anneaux elliptiques ou ronds. L'autre mode donne lieu, comme forme de passage à l'élément définitif, à des figures quadrilatères pleines. Mais cette distinction n'est peut-être pas très importante; car dans l'un et l'autre cas le résultat définitif est le même : formation d'un corpuscule unique et homogène.

Nous allons essayer de décrire et d'interpréter les images très compliquées qui surgissent pendant la marche de ces processus, ou de ce processus, s'il n'y en a qu'un.

Les segments-sœurs issus de la scission longitudinale ne s'éloignent pas l'un de l'autre, mais demeurent l'un à côté de l'autre en gardant pendant quelque temps leur parallélisme originel, FIG. 31 à 33. Je soupçonne même que la scission peut souvent ne pas intéresser toute la longueur des segments, mais qu'à chaque bout les segments-filles peuvent demeurer réunis par un mince pont de substance chromatique, sans avoir jamais été séparés en ce point; on en voit deux ou trois exemples dans la FIG. 32. Les segments sont à ce moment très rugueux, richement hérissés de petites épines, d'où partent de fins fils achromatiques qui se perdent bientôt pour la plupart dans le caryoplasme, mais dont quelques-uns en tout cas paraissent relier les segments entre eux par leurs bouts.

Que la scission longitudinale intéresse ou non toute la longueur des segments, toujours est-il qu'à partir de ce qu'on peut appeler, si l'on veut, la phase suivante, FIG. 33 et 34, on trouve *la plupart* des segments-sœurs unis par leurs extrémités et en train de s'écarter l'un de l'autre par leurs milieux. La contraction longitudinale continuant en même temps, les couples réunis prennent peu à peu pour la plupart une forme de bagues allongées, d'ellipses irrégulières, FIG. 32 à 34. D'autres couples cependant paraissent garder leur parallélisme ou montrer même leurs moitiés rapprochées par le milieu, FIG. 32, à droite en bas, FIG. 34, à gauche, etc.

La contraction et la condensation de la substance des éléments chromatiques continuent à se manifester, et bientôt les ellipses, les anneaux, ou les parallélogrammes n'ont plus la moitié des dimensions qu'ils possédaient lors de leur première formation, comme le montre la comparaison des FIG. 33 et 34 avec la FIG. 35. A peine la contraction a-t-elle progressé jusqu'à nous donner des groupes de dimensions à peu près égales à celles des plus petits groupes de la FIG. 34, qu'un autre processus entre en jeu.

Les images résultant de ce processus, FIG. 35 et 36, sont un objet assez difficile. Voici de quelle façon je les interprète... Prenons la FIG. 36. En *a*, nous avons une ellipse au stade de celles de la FIG. 34, c'est-à-dire à éléments encore rugueux, un peu moniliformes, mais à part cela de calibre assez égal dans toute leur longueur. En *b*, nous avons une ellipse dans laquelle les éléments se sont amincis en leurs milieux et se sont épaissis à leurs bouts; c'est-à-dire que dans chacun d'eux la substance a en partie déserté le milieu du segment pour se porter à ses extrémités, où elle a déterminé des renflements en forme de boule. En *c*, *d* et *e*, nous avons ou bien des éléments au même stade qu'en *b*, mais se présentant de telle sorte que la portion amincie n'est pas nettement visible; ou bien des figures de parallélogramme résultant de l'épaississement des bouts libres de segments-sœurs qui ne se sont pas écartés l'un de l'autre par leur région moyenne. En *f*, les deux extrémités renflées de chaque moitié de l'ellipse paraissent s'être confondues avec celles de l'autre moitié, de sorte que l'ellipse ne possède plus quatre renflements en boule, mais seulement deux. En *g* et *h*, nous avons ou bien le même stade, mais l'ellipse se présentant de telle façon qu'on ne voit distinctement qu'un seul de ses côtés amincis — effet de raccourcissement qu'il est extrêmement difficile de reproduire par le dessin : cette image peut également être déterminée très souvent par le fait que l'ellipse se trouve placée contre la membrane nucléaire, dont le contour masque un de ses côtés; ou bien, ces images peuvent procéder de figures en parallélogramme comme celle de *d*, les deux segments s'étant repliés en V après la formation des renflements en boule, processus qui expliquerait également l'image de *c*. En *i* et *j*, nous avons des figures résultant du raccourcissement d'éléments à bouts renflés, mais parallèles ou même rapprochés et fusionnés par leurs régions moyennes, comme nous avons admis que cela pouvait être le cas pour *c*, *d* et *e*.

Les groupes dessinés dans la FIG. 36 ont été choisis parmi ceux qui se

présentaient avec le plus de netteté dans plusieurs cellules; mais le noyau de la FIG. 35 offre également des exemples de toutes ces formes typiques.

L'une et l'autre de ces deux sortes de figures ont une certaine apparence quadripartite; car l'une et l'autre montrent quatre renflements en boule. Mais ce n'est là qu'une apparence : ces groupes ne sont pas en réalité quadripartites, mais bipartites : car toujours les deux renflements d'un même segment secondaire demeurent réunis par la région moyenne, toujours chromatique, de ce segment. Il y a même, si je ne me trompe, bien des groupes dans lesquels il ne se forme point de renflements du tout, qui passent à la phase suivante, celle de la coalescence de leurs moitiés, sans que ces moitiés aient montré aucune différenciation spéciale de leur forme.

En tout cas, le sort de l'une et de l'autre de ces figures est le même : les deux moitiés, jusque là plus ou moins indépendantes, se fusionnent en un seul élément homogène.

Les ellipses se contractent et s'épaississent; leurs deux moitiés se fusionnent par les bouts renflés; la figure de l'ellipse passe à celle d'un cercle, FIG. 37; la substance amassée dans les bouts renflés se répand de nouveau, semble-t-il, dans toute la longueur de l'élément. Les deux éléments des groupes en parallélogramme se rapprochent l'un de l'autre; ils se fusionnent, semble-t-il, dans toute leur longueur; et la différenciation terminale en boules s'efface, FIG. 35, 36, 37 et 39. Les cercles résultant des ellipses se contractent encore et perdent la petite lumière centrale qu'ils avaient encore au stade de la FIG. 37; les figures quadrilatères achèvent de se fusionner; les unes et les autres perdent leurs rugosités et se lissent; les fils latéraux qui en dépendaient disparaissent et nous n'avons plus que les petits amas ronds ou anguleux-arrondis, sans lumière centrale et sans trace de fente, des FIG. 38, 39, 39 bis et des figures 16, 17, 18 du mémoire *Sur la régression du fuseau*, et des figures 9 à 11 du mémoire *Sur le Nebenkern*.

Ainsi s'achève la formation des chromosomes définitifs de la couronne équatoriale.

Dans la FIG. 38, les chromosomes sont distribués d'une façon à peu près uniforme sur toute la surface du noyau. Or, dans la cellule qui a fourni cette figure, il n'y avait pas encore d'asters. Il n'en est pas ainsi de la cellule de la FIG. 39. Cette cellule possède des asters, et l'on remarquera que les chromosomes sont distribués en deux groupes réunis seulement par une trainée de deux ou trois chromosomes isolés, groupes qui paraissent être attirés par les asters. La même disposition se reconnaît,

quoique d'une façon moins frappante, dans la fig. 39bis. Elle s'observe aussi dans les figures 17 et 18 du mémoire *Sur la régression du fuseau*. Je crois que c'est là un fait assez général, et qu'il y a un moment, peu après l'établissement des asters, où les chromosomes se présentent en un ou deux groupes au voisinage immédiat des deux asters ou de l'un d'eux. Je n'ai pas d'explication parfaitement satisfaisante à offrir de ce phénomène. Je soupçonne qu'à ce moment il s'établit à chaque pôle du noyau un pore, par lequel le noyau est mis en communication ouverte avec le cytoplasme : que par ces pores le noyau déverse une substance mi-liquide dans le corps de la cellule, substance qui y forme les entonnoirs polaires ou cônes antipodes de VAN BENEDEN, dont il a été question dans mon dernier travail; et que c'est à la faveur des courants déterminés par ce déversement de substance liquide que les chromosomes sont portés aux pôles. En tout cas, ce phénomène paraît être digne d'attention.

La couronne équatoriale est *pleine*, en ce sens qu'elle porte ses chromosomes distribués d'une manière uniforme à travers toute la section équatoriale du fuseau, et non rangés en cercle régulier à sa périphérie seulement, fig. 41. Je n'entends pas par là nier qu'elle ne puisse posséder un fuseau central sans bâtonnets qui ait jusqu'ici échappé à l'observation. Je l'admets d'autant plus volontiers que je soupçonne même qu'il doit en être ainsi, vu que, comme cela a été dit plus haut, j'ai pu démontrer un corps semblable dans les premières prophases et dans les dernières anaphases, fig. 30 et 50 à 52. Même il me semble que, dans des vues polaires des couronnes, j'ai pu apercevoir ce corps, quoique pas avec une netteté suffisante pour m'autoriser à le dessiner.

Tant que les chromosomes ne sont pas arrangés en une couronne équatoriale régulière, ils présentent les formes irrégulières et variées des fig. 39 et 39bis, c'est-à-dire qu'ils sont irrégulièrement sphériques, ovales ou quadrilatères. Mais une fois arrangés dans la couronne équatoriale, ils présentent des formes plus régulières, dues sans doute à la traction exercée sur eux par les filaments du fuseau, qui dès ce moment est en rapport avec eux. Ils ont maintenant assez nettement la forme de fuseau, ou mieux de navette, fig. 40, 42, 43. Ils ont leur grand axe parallèle à l'axe du fuseau, et leurs bouts effilés paraissent se continuer chacun en un filament fusorial, de sorte que les filaments paraissent n'être que des prolongements achromatiques des chromosomes, ou bien que les chromosomes paraissent être des renflements des filaments, fig. 42 à 46. Ils varient beaucoup de

dimensions, comparez les FIG. 42 et 43. Comme nous l'avons dit, il est facile de constater par les vues polaires que la couronne contient 24 éléments, FIG. 41.

Le premier indice de la séparation des éléments constitutifs de la couronne consiste en ce que les chromosomes, jusque là en apparence parfaitement homogènes, s'éclaircissent un peu à l'intérieur, FIG. 43. On dirait que leur substance commence à désertir leur région centrale pour se condenser en leur région corticale. Puis en l'équateur de chaque chromosome se marque un étroit sillon, qui se trahit comme une fente pour les éléments qui sont vus de profil, et comme une fine ligne claire pour ceux qui sont vus de face, FIG. 44. Il faut noter cependant que cette fente n'apparaît pas d'abord sous la forme d'un sillon régulier intéressant tout le pourtour du chromosome, mais plutôt comme une dépression ou incision médiane, qui ne devient annulaire qu'au moment de la séparation définitive des chromosomes-filles. L'inspection des FIG. 44 et 45 fera sans doute comprendre cette disposition.

Cette dépression médiane devenant ainsi une constriction annulaire aboutit à la segmentation transversale des chromosomes. Mais comme cette dépression se propage en même temps dans le sens de l'axe des chromosomes, il en résulte que les chromosomes-filles se séparent sous la forme de corpuscules en forme d'as de cœur, ou si l'on veut, de petits éléments en V très trapus. Pendant la séparation, les pieds des V sont étirés en des ponts de chromatine qui les réunissent pendant quelque temps à ceux de leurs vis-à-vis, FIG. 45 et 46.

Les chromosomes-filles marchent vers les pôles en deux phalanges assez régulières. A mesure qu'ils approchent des pôles, *les chromosomes se rapetissent* tant et si bien qu'au moment de se grouper en noyaux-filles ils n'ont plus la moitié des dimensions linéaires qu'ils avaient au moment de la dislocation de la couronne équatoriale, FIG. 45 à 49 (les FIG. 45, 47, 48 et 49 proviennent de cellules-sœurs qui se trouvent côte à côte dans la même colonie; la comparaison que je fais de la taille de leurs éléments est donc strictement autorisée, ce qui ne serait pas le cas si les cellules appartenaient à des colonies diverses). Ce fait me paraît absolument général : il est l'expression de la généralisation d'un très grand nombre d'observations contrôlées par des mesures précises.

Je n'ai pas pu suivre en détail la reconstruction des noyaux filles. Les chromosomes *deviennent grêles*, paraissent émettre des fils, ce qui leur

donne un aspect un peu étoilé, FIG. 50 à 52, mais je n'ai pas pu établir si ces fils les relient entre eux. Bientôt on les voit enrobés par un caryoplasme ordinaire, qui se teint légèrement par les réactifs, et le tout s'entoure d'une membrane, mêmes figures. C'est à ce moment qu'on arrive souvent à distinguer un corps clair, homogène, brillant, en forme de fuseau, de navette ou de croissant, tranchant sur le fond sombre des jeunes noyaux, mêmes figures, *x*.

Dans la FIG. 50, ce corps est situé dans la profondeur des noyaux. Mais dans les FIG. 51 et 52, il paraît être en train d'en sortir. Je n'ai pas pu m'assurer si cette apparence n'est qu'accidentelle, ou si elle répond à une sortie véritable de cet élément, qui aurait lieu à ce moment.

J'ai déjà figuré un de ces petits fuseaux hyalins, fig. 12 de mon travail *Sur le Nebenkern*, et je l'y ai décrit, p. 240, comme faisant l'impression - d'une sphère hyaline, incolore, qui serait en train de sortir du groupe des chromosomes. (1) -

J'ai déjà dit que, ayant observé des corps pareils pendant les premières prophases, je suis tout disposé à admettre qu'il s'agit d'un élément ayant une certaine permanence, qui doit exister également pendant les phases intermédiaires. Je l'admets d'autant plus volontiers que je l'ai trouvé dans la phase équatoriale des spermatogonies, comme on se le rappellera, FIG. 18 à 20, et aussi, comme nous allons le voir, dans des couronnes équatoriales des spermatocytes II. Il semble donc naturel d'admettre qu'il peut exister dans la figure équatoriale des spermatocytes I et qu'il y doit occuper l'axe de la figure, comme pour les spermatogonies. Et, comme je l'ai dit plus haut, je crois même l'y avoir vu. Il me semble en effet que dans les vues polaires des couronnes équatoriales des spermatocytes I, j'ai pu l'apercevoir, mais pas avec une netteté suffisante pour me permettre de le dessiner. J'ai décrit et figuré, il y a longtemps, des détails dont la signification m'était alors inconnue, mais qui trouvent une explication toute naturelle dans

(1) S'il se vérifiait que ces petits fuseaux hyalins peuvent sortir des jeunes noyaux et se maintenir pendant quelque temps dans le cytoplasme, nous aurions peut-être là une explication des observations des auteurs qui, avec HERMANN, figurent de petits fuseaux existant dans le cytoplasme de cellules entrant en division et en font dériver le « fuseau central » de la nouvelle division. Mais de là à admettre que ces petits fuseaux puissent pénétrer de nouveau dans les noyaux pour devenir les fuseaux de la nouvelle cinèse, il y a loin. Il n'y aurait peut-être rien de très déraisonnable à admettre que le fuseau hyalin soit un élément permanent et que ses moitiés persistent dans les noyaux-filles pour servir de germe aux fuseaux des cinèses à venir. Mais si telle était leur destinée, pourquoi sortiraient-ils du noyau en premier lieu?

l'existence d'un corps hyalin fusiforme. En effet, dans mon mémoire sur *La régression du fuseau*, j'ai dessiné, fig. 9, 10, 11, 14 et 15, des moignons de fuseaux portant des pores ou canaux axiaux. J'y ai dit, p. 36, que « la base du moignon paraît être forée d'un minuscule canal axial, large d'un demi-micron environ. » Et j'ai ajouté que certaines apparences me portaient à croire que ce canal représentait le reste d'un canal axial, qui autrefois parcourait le fuseau d'un pôle à l'autre. Je n'en doute plus : ce *canal* est effectivement ou bien un canal indiquant l'emplacement d'un fuseau central, ou bien une portion équatoriale de ce fuseau lui-même, portion équatoriale qui aura été séparée de la portion polaire par la même déchirure ou le même étranglement qui a séparé la portion équatoriale du reste du fuseau de sa portion polaire. Je puis maintenant ajouter qu'il me paraît à peu près certain que ce dernier cas se réalise quelquefois, sinon toujours; car dans des images comme celles de la fig. 10, op. cit., j'ai vu plusieurs fois et nettement une petite papille brillante qui sortait du pore.

Le lecteur se rappellera sans doute qu'il a été expliqué à la p. 38 de ce même travail, que les *microsomes* ou renflements des plaques fusoriales se trouvent seulement à la périphérie des plaques, et non distribués à travers toute leur épaisseur. L'existence du fuseau central hyalin rend également compte de cette observation.

CHAPITRE III.

Les spermatocytes II.

PLATNER⁽¹⁾ a affirmé que la dernière division des spermatocytes opère une réduction de moitié du nombre des chromosomes de ces éléments. Cette réduction, selon PLATNER, serait effectuée de la manière suivante. A la fin de l'avant-dernière division, les anaphases usuelles feraient défaut; il se formerait un nouveau fuseau, sur lequel les chromosomes des groupes polaires s'arrangeraient en couronne équatoriale sans avoir passé par aucune phase de repos; il en résulterait, selon lui, qu'à la dislocation de cette couronne chaque noyau-fille ne recevrait en partage que la moitié du nombre habituel des chromosomes.

Une affirmation semblable a également été faite par O. vom RATH, comme nous l'avons vu plus haut; voyez la note de la p. 230.

D'après mes observations, cette affirmation est doublement inexacte : il y a une phase de repos et des prophases régulières, et *il n'y a pas de réduction du nombre des chromosomes*. Je crois cependant que dans l'assertion de PLATNER il y a une part de vérité. Il me semble en effet que même lorsqu'il y a des anaphases régulières de l'avant-dernière division, une phase de repos et des prophases régulières, ces phases sont pour ainsi dire réduites à une expression plus simple que les phases correspondantes de la cinèse ordinaire, et qu'elles sont plus ou moins abrégées.

Les noyaux-filles des spermatocytes I se présentent pendant leur reconstruction sous deux formes. Dans l'une, que j'ai figurée dans mon travail *Sur le Nebenkern*, fig. 12 et 13, les chromosomes se contractent en une masse d'apparence pâteuse dans laquelle on ne distingue plus d'éléments séparés. Dans ces figures, qui sont celles qu'on trouve le plus fréquemment, il est impossible de distinguer ce qui se passe à l'intérieur du noyau en reconstruction.

Dans l'autre forme de reconstruction, les choses se passent tout

(1) PLATNER : *Beiträge zur Kenntniss der Zelle und ihrer Theilungserscheinungen*; Arch. f. mik. Anat., XXXIII, 1889, p. 125. Le passage cité se trouve p. 139.

autrement. Chez certains individus, — je ne sais si c'est un phénomène physiologique ou tout simplement un effet de la fixation, — on trouve des figures *ouvertes*. Ces figures, FIG. 49 à 51, nous permettent de saisir au moins quelques indices de ce qui se passe dans les jeunes noyaux.

Au stade où nous les avons laissés à la fin du chapitre dernier, FIG. 50 à 52, les noyaux sont ovoïdes ou en forme de godet aplati. Déjà ils s'étaient entourés d'une membrane, comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent. Autour des chromosomes se développe un caryoplasme qui se teint par les réactifs, et les chromosomes deviennent en même temps plus pâles et difficiles à distinguer, FIG. 53. A ce moment, on voit apparaître de nombreux nucléoles, à situation surtout superficielle, dont les plus gros sont entourés d'auréoles claires, FIG. 53. En même temps, on aperçoit dans le cytoplasme un *Nebenkern*, tantôt très rapproché du noyau, tantôt au contraire très éloigné de lui, FIG. 53. Nous pouvons, je pense, certainement dire des cellules arrivées à ce stade que leurs noyaux sont reconstruits. Cependant, si l'on compare ces jeunes noyaux à ceux de pareil stade des spermatogonies ou des spermatocytes, on est frappé d'une certaine différence d'aspect, dont il est difficile de se rendre compte au premier abord. Malgré la difficulté très grande qu'il y a à bien débrouiller les images, je crois pouvoir expliquer cette différence comme il suit. — Dans les spermatogonies et les spermatocytes I, la chromatine se présente sous un aspect qui donne assez nettement l'impression d'un élément filamenteux *continu*, tandis que dans les spermatocytes II il en est autrement. Ici, à travers le fond sombre du caryoplasme, il me semble toujours que dans les bonnes images je puis distinguer des *éléments chromatiques libres et isolés*. En un mot, il semble que les chromosomes ne se reconstituent pas en un boyau nucléinien continu, ni en un réticulum chromatique ou charpente nucléaire de certains auteurs; mais que, quoique devenus pâles et indistincts, ils ont gardé leur indépendance.

Il semblerait donc que nous pouvons admettre que, s'il y a une phase de repos, — et assurément la possession d'une membrane nucléaire et de nucléoles en témoigne suffisamment, — cette reconstruction fondamentale des noyaux qui a lieu dans les cinèses ordinaires ne se produit cependant pas.

Au stade représenté dans la FIG. 53, je n'ai jamais pu apercevoir le petit fuseau hyalin des FIG. 50 à 52, et je pense qu'il n'y existe plus. Car à ce moment, les conditions seraient, à ce qu'il semble, plutôt favorables pour le voir, s'il y existait. Je ne puis pas dire ce qu'il est devenu; je l'ai cherché

avec soin dans le cytoplasme et dans le Nebenkern, mais jusqu'à présent sans résultat.

Les jeunes noyaux ne grandissent que peu. Il serait peut-être plus exact de dire qu'ils ne grandissent pas du tout, si par ce terme on entend un accroissement physiologique de substance. Ils se *dilatent* plutôt au fur et à mesure que la nouvelle cinèse se développe, FIG. 53 à 59.

Comme pour les spermatogonies et pour les spermatocytes I, le premier indice d'une cinèse imminente que j'ai pu saisir consiste en l'apparition dans le caryoplasme sombre d'une tache claire. Dans un grand nombre de cas, j'ai pu constater que cette tache a tous les caractères du petit corpuscule hyalin qui a été décrit pour les spermatogonies et les spermatocytes I; la FIG. 54 en donne une assez bonne idée. En même temps, l'élément chromatique, jusque là pâle et indistinct, redevient facilement colorable et se révèle nettement sous la forme de chromosomes un peu irréguliers, mais isolés, et de même taille environ que ceux qui étaient entrés dans le noyau lors de son édification, FIG. 54.

Le fond du noyau s'éclaircit et se dilate, et les chromosomes deviennent plus lisses, réguliers, et plus espacés dans le noyau, FIG. 55. A ce moment, ils ont la forme de petits bâtonnets légèrement recourbés et montrant une tendance à un certain épaississement de leurs extrémités. FIG. 55 à 57. Ils montrent souvent une ligne axiale claire, qui pourrait faire penser au début d'une scission longitudinale. Mais je suis convaincu qu'il n'en est rien, et que cette ligne claire, si elle est autre chose qu'une ligne de réfraction, indique seulement une différence de densité entre l'axe des bâtonnets et leur région corticale. J'ai recherché avec le plus grand soin des indices d'une scission longitudinale des bâtonnets, et je suis convaincu qu'elle fait entièrement défaut.

Les chromosomes achevés ont une tendance à se rassembler en un groupe serré ou en deux groupes en une région quelconque du noyau, FIG. 57, comme dans les spermatocytes I. Je n'ai pas pu me rendre compte de la raison d'être de ce phénomène. J'ai souvent pu apercevoir le corpuscule hyalin au milieu de ces groupes, FIG. 57.

Cette dernière figure mène directement à la couronne équatoriale, FIG. 58 à 59. Dans les vues polaires de la couronne, on distingue très souvent avec une remarquable facilité le corpuscule hyalin, FIG. 58, et l'on constate avec la plus grande certitude que *le nombre des chromosomes est de 24*, FIG. 58 et 58 bis. La couronne est pleine, c'est-à-dire que les chromosomes

sont également distribués sur toute sa section, sauf dans l'étroit espace axial qui est occupé par le corpuscule hyalin (j'ai pu apercevoir ce corps dans des vues de profil, mais pas avec une netteté suffisante pour me sentir autorisé à le dessiner).

Les chromosomes achevés ont la forme représentée dans la fig. 60. Ils sont environ deux fois aussi longs que larges, mesurant en moyenne un micron de largeur sur deux de longueur. Ils sont placés sur le fuseau avec leurs axes majeurs parallèles à l'axe du fuseau, fig. 59 et 61. Ensuite de l'épaississement de leurs extrémités, qui à ce moment peuvent montrer un léger sillon longitudinal qui leur donne un aspect un peu bilobé, ils présentent souvent l'apparence de deux petites boules irrégulières reliées par un pont étroit, fig. 61; mais ils ne sont pas en réalité bipartites.

La métacinèse consiste en ce que les chromosomes subissent la *division transversale* au niveau du pont étroit qui relie leurs extrémités renflées, et que les moitiés métamères se rendent chacune à un pôle différent sous la forme de petits corpuscules triangulaires ou cordiformes, fig. 62 à 69.

L'ascension polaire se fait sur deux bandes larges et très régulières, fig. 62, 64 et 66. On peut constater avec la plus grande certitude que le nombre d'éléments dans chacune de ces bandes est de 24, et que ce même nombre d'éléments entre intégralement dans le noyau de chaque spermatide.

En conséquence, il n'y a *point de réduction numérique de chromosomes* dans la cinèse des spermatocytes II.

Puisque ce point est important et que l'absence de toute réduction de chromosomes tant dans la dernière cinèse que dans toutes les cinèses précédentes de la spermatogénèse des *Helix* est en désaccord complet avec les faits qui paraissent avoir été établis pour toutes les spermatogénèses les mieux étudiées jusqu'ici, je dois prier le lecteur de bien vouloir me permettre de décrire avec un certain détail les anaphases représentées dans les fig. 62 à 70.

La fig. 62 représente une cellule dans laquelle la dislocation de la couronne n'est pas achevée. La couronne s'est divisée du côté qui est tourné vers l'observateur un peu plus tôt que dans le fond. Le plan de séparation est indiqué par les flèches. Au-dessous de ce plan, je compte nettement 18 éléments, mais il se peut très bien qu'il y en ait encore deux ou trois. Au-dessus de ce plan, il y en a certainement 11. La cellule est coupée un peu obliquement, et au-dessous il n'y a qu'une tranche de la portion polaire du fuseau. Le reste de la cellule est contenu dans la coupe suivante, fig. 63.

Au-dessous du plan de séparation indiqué par les flèches, on trouve le reste de la portion polaire du fuseau, qui est montré entamé dans la FIG. 62, et trois chromosomes, ce qui fait en tout 21 chromosomes pour la couronne polaire de dessous, ou 24 environ si nous admettons l'existence des deux ou trois autres indiqués comme possibles dans la FIG. 62. Au-dessus des flèches il y en a dix; ce qui fait pour la couronne-fille supérieure 24 exactement.

La FIG. 64 représente une anaphase plus avancée. Dans la couronne inférieure, on compte 22 éléments, et dans le groupe supérieur, 16. La cellule se continue dans la coupe suivante, qui montre encore 8 éléments dans le groupe supérieur : total, 22 éléments dans la couronne inférieure et 24 dans la supérieure.

Les FIG. 65 et 66 montrent une cellule bien typique. Qui est-ce qui, hanté par la conviction que dans la cinèse des spermatocytes II il doit nécessairement y avoir une réduction de chromosomes, ne serait convaincu en abordant l'examen de ces figures qu'il a devant lui des couronnes polaires à douze chromosomes? A l'examen au faible grossissement de la FIG. 65, cette conviction paraît irrésistible. Et même à l'examen avec des objectifs puissants, il faut beaucoup d'attention pour arriver à se rendre compte de l'état véritable des choses. Car ces couronnes sont très régulières et se présentent exactement par la tranche. En conséquence, un nombre considérable de chromosomes sont recouverts par d'autres au point d'être très difficilement visibles.

La FIG. 66 donne une très bonne idée de l'apparence de cette cellule telle qu'elle se présente par la combinaison des coupes optiques résultant de deux positions seulement de la vis micrométrique. On a l'illusion de deux groupes composés seulement de douze chromosomes environ. Mais ce n'est là qu'une illusion.

La FIG. 67 donne l'analyse définitive de ces deux couronnes polaires, les chromosomes étant dessinés exactement, mais déplacés juste autant qu'il faut pour que chacun d'eux soit dessiné distinctement. Or il y en a 16 en haut et 19 en bas. Donc déjà bien plus de douze. Ensuite, la cellule se continue dans la coupe suivante; et l'on y compte encore 8 en haut et 5 en bas. Total, 24 éléments dans chaque couronne.

Je crains d'ennuyer le lecteur, mais la question est importante; continuons!

La FIG. 68 montre une cellule coupée très obliquement. Dans la couronne de gauche, je compte 24 chromosomes, et dans celle de droite, 6.

Dans la coupe suivante, il y a 18 chromosomes à droite, ce qui fait 24 exactement pour chaque couronne.

Enfin, la fig. 69 montre également une cellule coupée obliquement. On y voit 24 chromosomes en haut et environ 20 en bas. Malheureusement, il n'a pas été possible de reconstruire cette cellule d'après une coupe suivante, car elle provient d'une coupe qui est la dernière de la série.

J'espère en avoir dit assez pour convaincre le lecteur que je ne parle pas à la légère lorsque j'affirme que le nombre de chromosomes de la dernière cinèse est le même que dans toutes les cinèses précédentes. 24 chromosomes entrent dans la composition de la couronne équatoriale, et 24 entrent dans les couronnes polaires.

La reconstruction des noyaux-filles se calque sur celle des figures *ouvertes* des spermatocytes I. Les figures étant ouvertes, on constate facilement que les noyaux reçoivent le nombre total d'éléments, 24 environ, sans fusion ni réduction d'aucune sorte. Les chromosomes s'entourent d'un caryoplasme ordinaire et d'une membrane nucléaire, et souvent on distingue avec beaucoup de netteté dans les jeunes noyaux un petit fuseau hyalin, fig. 70. Comme dans les spermatocytes I, à mesure que les chromosomes se reconstituent en noyau, *ils se rapetissent*, de sorte que dans le noyau achevé ils sont beaucoup plus petits que dans la couronne encore libre, fig. 69 et 70.

CHAPITRE IV.

Les corpuscules polaires et les corpuscules sidérophiles du cytoplasme et du noyau

J'entends par corpuscules polaires des granules achromatiques, -- c'est-à-dire qui se colorent peu ou point par les anilines basiques et la plupart des réactifs, -- qui se trouvent au voisinage des pôles du fuseau.

Dans mon travail *Sur le Nebenkern*, j'ai dit que dans les spermatocytes des *Helix* il n'y a point de corpuscules polaires. Il y a lieu de rectifier cette assertion.

Le caractère diagnostique principal de ces corpuscules est que, quoique achromatiques envers la plupart des colorants, ils se colorent avec facilité et avec une remarquable intensité par l'hématoxyline au fer de BENDA ou de M. HEIDENHAIN. Ils ne se colorent point ou seulement d'une façon sporadique et incomplète par les hématoxylines alunées, telles que l'hématoxyline de DELAFIELD ou le Hémalun de MAYER. C'est donc au fer des hématoxylines de BENDA ou de HEIDENHAIN qu'est due la coloration par ces réactifs : ce sont donc des corps *sidérophiles*, à position polaire.

D'autres corpuscules d'apparence identique et offrant les mêmes réactions se trouvent également dans des situations quelconques dans le cytoplasme. Il en a été question dans mon travail *Sur le Nebenkern*, p. 249 et fig. 26 et 27.

Enfin, des corpuscules tout à fait pareils se trouvent dans les noyaux des spermatocytes en prophase.

Je pense que ces trois sortes d'éléments ne sont qu'une seule et même chose dans trois situations diverses, et qu'il convient de les réunir sous la commune dénomination de *corpuscules sidérophiles*. Cependant pour la commodité de l'étude, il sera peut-être utile de tenir compte de leurs rapports de situation, et de les étudier séparément sous les rubriques de corpuscules polaires, corpuscules sidérophiles du cytoplasme et corpuscules sidérophiles du noyau. Nous n'étudierons que les corpuscules sidérophiles des spermatogonies et des spermatocytes, réservant pour une autre occasion les corpuscules des spermatides.

Les corpuscules polaires se rencontrent dans les spermatogonies, les spermatocytes I et II, et dans les jeunes spermatides. Ils sont sphériques ou à peu près. Leurs dimensions varient entre 0,25 μ et 1 μ de diamètre, mais le plus grand nombre d'entre eux offrent des dimensions moyennes de 0,5 μ environ. Ils peuvent être entourés d'une auréole claire, ayant un rayon de une à deux fois leur diamètre, par exemple FIG. 39, c; ou bien ils peuvent être nus, par exemple FIG. 39bis, c. p., ou FIG. 43.

Ils se présentent sous deux aspects différents. Ils peuvent avoir un contour parfaitement net et défini, FIG. 19, 20, 29, 39, 39 bis, 50, 64, ou bien leurs contours peuvent être plus ou moins indécis, comme c'est le cas pour la cellule de la FIG. 43. Cette dernière catégorie mène à des cas comme celui de la FIG. 42, qui montre la région centrale des asters occupée par une masse sombre, à contours vagues. Cette masse, à un examen superficiel, peut en imposer pour un corpuscule distinct, mais elle n'est certainement pas autre chose qu'une condensation de la substance de l'aster, ou même seulement un effet de l'irrésolvabilité optique de l'image.

Cette gradation dans le caractère des images porte à penser que nous avons affaire à un corps qui se montre souvent en voie de dissolution.

Les corpuscules polaires se trouvent quelquefois, ou peut-être même souvent, situés très près du centre des asters ou du pôle géométrique du fuseau, FIG. 39bis et 43. Je dis très près, car même dans les cas où le corpuscule paraît se présenter de la façon la moins équivoque en la situation polaire, il semble le plus souvent qu'avec assez d'attention on découvre qu'il est situé en réalité un peu en deçà, au-delà ou à côté de ce qui paraît être la position polaire géométrique. Ainsi, les corpuscules de la FIG. 43 paraissent être situés un peu au-dessus du point mathématique de réunion des filaments du fuseau.

Le plus souvent, ils sont situés dans des positions qui sont indiscutablement en dehors des pôles géométriques du noyau, et très souvent ils s'écartent si notablement de cette position qu'il est impossible de dire si l'on fait bien de les classer comme corpuscules polaires ou s'ils ne trouveraient pas mieux leur place dans le groupe des corpuscules sidérophiles du cytoplasme. Pareils cas sont représentés dans les FIG. 19, 20, 39, 44, 59, 62, 64, 69. Assez souvent, on les trouve comme collés sur les parois des entonnoirs polaires, FIG. 39, 39bis à droite. Nous pourrions désigner ces corpuscules éloignés sous le nom de corpuscules péripolaires.

Les corpuscules qui occupent à peu près la position polaire géométrique *ne sont jamais entourés d'une aréole claire*, FIG. 39 bis et 43.

Les corpuscules polaires sont-ils une formation constante, complètement obligé de toute cinèse?

Je crois pouvoir affirmer que non.

Il ne suffit sans doute pas, pour prouver une pareille affirmation, de faire observer qu'on ne trouve nullement des corpuscules polaires dans toutes les cellules. Car il se peut que ce soit des éléments dont la colorabilité par les réactifs dépend de certaines conditions inconnues, qui ne se réalisent pas dans toutes les préparations, ni même dans toutes les parties d'une seule et même préparation.

Je pense cependant que, si dans une seule et même région d'une préparation, et même dans une seule colonie de cellules, nous trouvons côte à côte des cellules qui montrent des corpuscules polaires parfaitement nets et intensément colorés, et d'autres qui n'en montrent pas trace, nous sommes en plein droit de supposer que ces dernières n'en possèdent pas. A plus forte raison, si nous trouvons des fuseaux dont l'un des pôles montre un corpuscule, tandis que l'autre en est dépourvu.

Or, c'est ce qui arrive.

Prenons les FIG. 39, 39 *bis*, 42 et 43. Les cellules de ces figures se trouvent dans deux colonies adjacentes, qui se trouvent dans des conditions absolument identiques dans la préparation. La fixation est parfaite, et la coloration paraît ne rien laisser à désirer. Ces deux colonies contiennent ensemble 102 cellules; dans l'une d'elles, il n'y a que des phases de peloton segmenté et des couronnes équatoriales, FIG. 39, 39 *bis* et 42; dans l'autre, il y a des couronnes équatoriales, des métacinèses et des anaphases avancées. Sur ces 102 cellules, 70 au moins ont des asters, et devraient en conséquence montrer toutes des corpuscules polaires, si ces éléments étaient un accompagnement obligé des pôles cellulaires. Or, voici le bilan de ces 70 cellules :

9 possèdent des corpuscules polaires à position assez précisément polaire, comme dans la FIG. 39 *bis*, en haut;

13 autres possèdent des corpuscules péripolaires, c'est-à-dire situés dans le voisinage du pôle, mais non pas au pôle géométrique précis, comme dans la FIG. 39, en haut à gauche;

6 sont douteuses;

27 ne possèdent certainement aucun corpuscule sidérophile quelconque;

et les autres, tout en étant privées de corpuscules polaires ou péripolaires, possèdent en revanche des corpuscules sidérophiles situés dans le noyau ou dans le cytoplasme, dans les régions équatoriales.

Il est à noter que la colonie des cellules **39**, **39 bis** et **42** montre beaucoup plus de corpuscules polaires que celle de la cellule **46**. Les deux se trouvent cependant dans des conditions absolument identiques de fixation et de coloration.

Prenons les fig. **43** et **47** à **49**. Ces figures représentent des cellules qui se trouvent dans la même coupe, la cellule de la fig. **43** en haut près du bord, les autres en bas, à pareille distance de la surface de la glande. Elles sont donc dans des conditions à peu près identiques de fixation et de coloration.

La fig. **43** provient d'une colonie dont six cellules seulement se trouvent dans la préparation. Elles portent toutes des corpuscules polaires d'un aspect semblable à ceux de la fig. **43**. Deux d'entre eux montrent en outre un corpuscule sidérophile situé dans la région équatoriale du cytoplasme.

Les fig. **47** à **49** proviennent d'une colonie dont il n'y a que sept cellules dans la préparation. Elles sont toutes en anaphase et apparaissent avec une clarté admirable. Deux de ces cellules possèdent des corpuscules situés dans la région polaire de la cellule, mais pas assez près des pôles pour qu'on puisse les appeler corpuscules polaires. Les cinq autres ne montrent aucun corpuscule en aucune région de la cellule.

On ne peut que s'étonner que, si ces corpuscules sont des *centrosomes*, des *organes permanents de la cellule*, la colonie de la fig. **43** en montre si clairement dans toutes les cellules qui se trouvent dans la préparation; tandis que la colonie des fig. **47** à **49** n'en montre que dans deux cellules sur sept, et encore en dehors de la situation polaire.

Voici, dans une autre série de coupes, une petite colonie de 15 cellules, toutes parfaitement démontrées. Elles sont toutes au stade de la couronne équatoriale, et douze de ces couronnes se présentent de profil. Quatre montrent d'une façon parfaitement nette des corpuscules à situation polaire approximativement précise. Une possède un corpuscule péripolaire. Les trois qui se présentent en vue polaire ne montrent rien; mais étant donnée la difficulté qu'il y a à déterminer l'existence d'un corpuscule polaire dans les vues de pôle, on peut les classer comme douteuses. Les sept autres ne montrent certainement aucun corpuscule à position polaire ou péripolaire; une seule présente un corpuscule cytoplasmique.

Il serait inutile de pousser plus loin ces études statistiques. Nous obtiendrions toujours le même résultat : dans une seule et même préparation, dans une seule et même colonie et côte à côte, des cellules qui montrent

des corpuscules polaires, et d'autres qui n'en montrent pas. J'en ai conclu que ces corpuscules ne sont pas des formations constantes.

Il ne reste qu'à signaler un point qui paraît avoir son importance. C'est que parmi ces corpuscules, ceux qui sont à position assez précisément polaire sont extrêmement rares; tandis que ceux auxquels nous avons reconnu une position péripolaire sont assez abondants. Ni les uns ni les autres *n'ont en aucun cas des rapports quelconques avec les rayons des asters*. Aucun filament protoplasmique ne s'insère jamais sur eux. Ils sont libres dans la cellule, comme des corps étrangers.

Considérons maintenant les *corpuscules sidérophiles du cytoplasme*.

Nous avons déjà indiqué les caractères de ces éléments. Ce sont des corpuscules sidérophiles de 0,25 μ à 1 μ de diamètre, en moyenne de 0,5 μ , entourés ou non d'une aréole claire. Cette aréole claire est souvent limitée au-dehors par une légère condensation du cytoplasme environnant; on dirait que le cytoplasme a subi en cet endroit une sorte de tassement dû à ce qu'il a été refoulé par la substance claire de l'aréole. Mais *en aucun cas les trabécules du cytoplasme ne prennent insertion ni sur les corpuscules ni dans la substance des aréoles*. Les corpuscules sont au contraire libres dans le cytoplasme, à la manière de corps étrangers.

On peut distinguer deux aspects sous lesquels les corpuscules sidérophiles du cytoplasme peuvent se présenter. Ils peuvent se colorer d'une façon extrêmement intense; ou bien — et cela dans une seule et même cellule — ils peuvent être très pâles, au point d'être à peine perceptibles, FIG. 46. Je pense qu'il s'agit dans ces cas de corpuscules qui sont en train de se dissoudre dans le cytoplasme.

Quelquefois on trouve deux de ces corpuscules dans une aréole claire commune, comme par exemple dans les FIG. 25, 35 et 70. Mais je n'ai jamais vu d'image qui m'aurait porté à croire que cette gémination fut l'effet de la division d'un corpuscule unique.

Il nous reste à examiner leurs rapports de nombre et de position.

Et d'abord, existent-ils en nombre déterminé?

La réponse n'est pas douteuse. Ils n'existent pas en nombre déterminé. Il peut y en avoir un, il peut y en avoir deux ou trois, il peut y en avoir quatre, cinq ou six, comme dans la FIG. 44, ou même davantage, je crois jusqu'à une douzaine. Ils peuvent manquer entièrement, c'est peut-être le cas le plus fréquent. Ainsi, des 102 cellules qui ont fourni la

statistique des corpuscules polaires donnée plus haut, 29 m'ont montré un seul corpuscule cytoplasmique, 9 m'ont montré plus d'un, et toutes les autres ne m'en ont pas montré du tout il est bien entendu que, pour établir ces chiffres, j'ai eu soin de ne pas compter les corpuscules que j'avais considérés comme corpuscules polaires, de sorte que nous ne devons admettre comme étant entièrement dépourvues de corpuscules sidérophiles que les 27 cellules mentionnées plus haut dans la discussion des corpuscules polaires).

Or, ce cas est parfaitement typique. Les corpuscules cytoplasmiques n'existent pas en nombre déterminé; très souvent ils n'existent même pas du tout; et comme pour les corpuscules polaires, j'ai conclu de ces observations que ce ne sont pas des formations constantes.

Notons que les corpuscules cytoplasmiques sont beaucoup moins nombreux dans les spermatogonies que dans les spermatocytes.

Notons enfin que le nombre de corpuscules *cytoplasmiques* paraît augmenter au fur et à mesure que se poursuit la cinèse. Comme l'indiquent assez bien les figures, on ne trouve guère pendant le stade de repos qu'un ou deux corpuscules dans le cytoplasme. Pendant les prophases, ce chiffre peut monter jusqu'à quatre, FIG. 35. Au stade équatorial et pendant les anaphases, nous pouvons en trouver six et plus, FIG. 41 et 50... Je dirai plus loin que l'explication probable de ce fait me paraît être que ces corpuscules sont formés dans le noyau pendant le repos, et de là évacués dans le cytoplasme au fur et à mesure que la cinèse se déroule.

Voyons maintenant quels sont les rapports de position qu'ils affectent dans la cellule.

Ils peuvent occuper n'importe quelle position dans le cytoplasme, tant pendant l'état de repos de la cellule que pendant les cinèses. Il n'y a, je crois, qu'une exception à cette règle, c'est le cas des spermatogonies. Ces cellules ont un noyau souvent énorme, à situation distale en général, et entouré d'une couche excessivement mince de cytoplasme. Or, les corpuscules sidérophiles évitent cette région de la cellule et se trouvent presque toujours dans sa région basale, FIG. 4, comme s'ils avaient été refoulés dans cette position par la pression exercée par le noyau sur le cytoplasme distal. Ce ne sont que les spermatogonies munies d'un cytoplasme exceptionnellement volumineux qui fassent exception à cette règle, FIG. 5.

Peut-être en est-il de même pour les spermatocytes. En effet, dans ces cellules, à l'état de repos, on trouve les corpuscules situés plus souvent dans la région basale que dans la région distale, FIG. 30, 42, 54 et 55.

Ceux d'entre eux qui se trouvent situés franchement dans la région basale des cellules au repos se trouvent nécessairement à proximité du Nebenkern, FIG. 30. Ils peuvent être beaucoup plus rapprochés du Nebenkern que ne le montre cette figure; qu'on veuille comparer par exemple la prophase, FIG. 35, qui montre qu'ils peuvent être pour ainsi dire mêlés aux filaments du Nebenkern en dissolution. On en voit souvent deux, placés assez symétriquement de chaque côté du Nebenkern. Cette position pourrait suggérer la pensée qu'ils viennent de sortir du Nebenkern, mais c'est là une supposition qu'une étude attentive m'a fait rejeter. Il va sans dire que les corpuscules, se trouvant souvent à proximité du Nebenkern, se montrent quelquefois optiquement superposés à cet élément, ce qui peut faire naître l'illusion qu'ils sont à l'intérieur de ce corps. Mais dans la grande majorité des cas, une étude attentive avec de forts grossissements permet de reconnaître que ce n'est là qu'une illusion, et que les corpuscules qui en imposent comme tels se trouvent en réalité en dehors du Nebenkern. Je ne voudrais cependant pas exclure la possibilité que dans quelques cas fort rares le Nebenkern ne puisse contenir des corpuscules sidérophiles; mais dans ces cas j'admettrais qu'ils s'y seraient introduits du dehors. Ce fait n'aurait rien d'étonnant; car, comme je l'ai montré dans mon travail *Sur le Nebenkern*, cet élément a essentiellement la forme d'une cloche, et rien ne s'opposerait à ce qu'un corpuscule cytoplasmique ne put s'introduire dans sa cavité.

Il est une autre situation fort remarquable où peuvent se trouver les corpuscules cytoplasmiques des cellules au repos. Ils peuvent être collés sur la membrane nucléaire, de telle sorte qu'ils font l'effet d'être en train de sortir du noyau en soulevant un mince feuillet de la membrane nucléaire. J'ai figuré ce phénomène dans mon travail *Sur le Nebenkern*, FIG. 26 et 27.

Les corpuscules qui se trouvent dans cette position sont toujours nus, c'est-à-dire qu'ils ne sont entourés d'aucune aréole claire. Sous ce rapport donc, ils ressemblent aux corpuscules polaires à position strictement polaire, qui, comme nous l'avons vu plus haut, sont également toujours dépourvus d'aréole.

Pendant la cinèse, les corpuscules cytoplasmiques paraissent pour la plupart être jetés sans ordre dans le cytoplasme. Cependant, détail qui ne ressort pas clairement des figures, qui n'ont pas été choisies à cet effet, il est une situation qu'ils paraissent affectionner: j'ai été frappé de la fréquence avec laquelle on les trouve, au nombre de un ou deux, ou même jusqu'à quatre, situés à peu près dans le plan équatorial de la figure cinétique,

FIG. 25 et 59. Cela est tellement vrai que rien n'est plus commun que de rencontrer des corpuscules sidérophiles dans les vues polaires des couronnes équatoriales, comme dans les FIG. 16 et 58bis.

Et maintenant, les *corpuscules sidérophiles du noyau*! Je n'ai trouvé ces corpuscules jusqu'à présent que dans les spermatocytes I, et je n'ai pu les démontrer avec certitude que dans les cellules au stade des FIG. 39 et 39bis. Dans certaines colonies, on les trouve en grande abondance, et dans d'autres plus rarement. Je pense que si je n'ai pu les démontrer avec certitude dans les stades antérieurs, cela tient à ce qu'ils y sont masqués par l'abondance de la chromatine assez uniformément distribuée dans le noyau, et par le réticulum caryoplasmique qui existe également en plus ou moins grande abondance pendant ces stades. Ce ne serait, semble-t-il, qu'après que le caryoplasme s'est converti pour la plus grande partie en substance fusoriale hyaline et que les segments nucléiniens se sont contractés en des chromosomes lisses qu'il devient facile d'apercevoir ces corps.

Ils ont tous les caractères des corpuscules polaires à situation exactement polaire. Ils ont la même taille, de 0.25 μ à 1 μ , avec une moyenne de 0.5 μ environ. Ils se colorent intensément par l'hématoxyline au fer, et ils doivent être à peu près réfractaires à la coloration par les colorants de la chromatine. Car jamais je n'en ai pu apercevoir un seul dans les préparations faites avec ces derniers réactifs, tandis que dans les préparations faites avec l'hématoxyline au fer on les trouve en abondance.

Ces corpuscules se trouvent souvent collés sur les trabécules du réticulum caryoplasmique ou bien sur la membrane nucléaire; je n'ai pas pu m'assurer s'il y en a de libres dans le noyau. Comme les corpuscules polaires à situation exactement polaire, et comme les corpuscules cytoplasmiques qui se montrent collés sur la membrane nucléaire, *ces corpuscules sont toujours nus!!*

Je ne puis pas donner de renseignements précis sur le nombre de ces éléments. Il me paraît être très variable. Souvent dans des noyaux qui paraissent être bien placés pour l'observation, on n'en aperçoit qu'un ou deux, ou point du tout. D'autres fois, ils sont bien plus nombreux: j'en ai souvent compté avec une entière certitude jusqu'à six dans un noyau, FIG. 39 et 39bis, et je suis convaincu qu'ils peuvent être bien plus nombreux que cela.

A partir du moment de la disparition de la membrane nucléaire, *on en trouve beaucoup moins dans le noyau*. Mais ils n'y font pas toujours défaut à ce moment. Car souvent on observe des corpuscules en tous points sem-

blables *engagés dans le fuseau*, et cela surtout dans la région équatoriale du fuseau pendant les anaphases. Si je ne me trompe, ce sont là les éléments qui ont déjà été observés par FLEMMING, et qui, d'après cet auteur, serviraient à former les *microsomes* de la plaque fusoriale. Cette dernière opinion, d'après mes observations, est inexacte : les *microsomes* de la plaque fusoriale sont constitués par des renflements des filaments du fuseau, comme je l'ai dit dans mon travail sur *La régression du fuseau caryocinétique*, p. 33.

Résumons tous ces faits en une synthèse qui me paraît des plus probables. Ces faits paraissent indiquer que, pendant la période de repos, il se forme dans le noyau des spermatogonies et des spermatocytes des corpuscules sidérophiles nus en nombre variable. Pendant la période de repos et pendant les prophases de la cinèse aussi, certains de ces corpuscules sont éliminés du noyau en passant à travers la membrane nucléaire, fig. 26 et 27 de mon travail *Sur le Nebenkern*. Arrivés dans le cytoplasme, ils *s'entourent ou non d'une aréole claire* et deviennent les *centrosomes* des auteurs. Ceux de ces corpuscules nucléaires qui n'ont pas été éliminés pendant les prophases sont évacués par les pôles du noyau au moment de l'établissement du fuseau, en passant par un pore qui se forme à ce moment en ce point et qui sert également à l'émission d'une certaine quantité de substance nucléaire hyaline destinée à former les entonnoirs polaires, comme je l'ai dit dans mon travail *Sur le Nebenkern*, p. 234. Les corpuscules évacués de cette façon sont les *corpuscules polaires* connus de longue date comme apparaissant souvent aux pôles de la figure au stade équatorial. Quelques-uns d'entre eux sont rejetés entièrement en dehors du fuseau, et, *s'entourant d'une aréole claire*, demeurent dans les régions sous-polaires sous la forme de corps que nous avons distingués comme *corpuscules péripolaires*. D'autres demeurent engagés dans le col qui relie le sommet du fuseau à l'entonnoir polaire, point autour duquel se forment les asters. Ceux-ci sont encore les *centrosomes* des auteurs. Ils ne s'entourent pas d'une aréole claire, mais bientôt se dissolvent sur place, leurs produits de dissolution servant à communiquer aux centres des asters cet aspect sombre qu'ils présentent si souvent.

Dans tous les cas, ces éléments formés dans le noyau sont destinés à se dissoudre dans le cytoplasme sans y avoir jamais joué un rôle mécanique quelconque. C'est bien à tort qu'on voudrait leur imposer la dénomination de *centrosomes*, car ils ne sont les centres obligés d'aucun organe ou système organique de la cellule.

CHAPITRE V.

Le cytoplasme et le caryoplasme.

Le cytoplasme des spermatocytes. Sans avoir l'intention d'entrer en une discussion détaillée de la structure du cytoplasme de ces cellules, je crois cependant utile d'en dire quelques mots. En présence des opinions diverses qui ont cours aujourd'hui sur la structure du cytoplasme en général, il y a peut-être intérêt à ce que chacun fasse connaître les résultats auxquels il est arrivé par l'étude spéciale d'un genre particulier de cellules.

Il n'y a pour moi le moindre doute que le cytoplasme des spermatocytes des *Helix*, — objet très favorable à l'étude, — ne possède une structure réticulée, et non granuleuse comme le veut ALTMANN, ni alvéolaire comme le veut BÜTSCHLI. Il est composé d'un réseau de filaments, réticulum de CARNOY ou spongioplasme de LEYDIG, filaments courant dans tous les sens selon les trois dimensions de l'espace et plongés dans une substance amorphe et demi-liquide, fortement chargée de granules excessivement petits, l'hyaloplasme de LEYDIG ou enchylème de CARNOY.

Les filaments du réticulum me paraissent être essentiellement homogènes, c'est-à-dire que ce sont de véritables filaments continus et non de simples alignements de microsomes. Ils peuvent contenir des granules, qu'on peut appeler microsomes si l'on veut, sans faire beaucoup de tort à la science, mais aussi sans la faire avancer beaucoup. Mais alors ces granules y sont à titre d'enclaves et non d'éléments de structure essentiels. Les filaments courent pêle-mêle dans le réticulum en décrivant d'inextricables sinuosités. Ils ne poursuivent jamais, dans la cellule quiescente, que des trajets très courts dans la même direction. Ils changent de direction très brusquement, revenant sur eux-mêmes selon des angles très aigus. Ils se dichotomisent, se trichotomisent, ou présentent même très fréquemment des points de subdivision qui sont de véritables verticilles de rameaux secondaires. Ces divisions se font souvent sous des angles droits, et lorsque dans ce cas plusieurs rameaux secondaires viennent à rayonner d'un seul point, il se forme dans le réticulum de véritables petits asters. Arrive-t-il que le rameau-mère se présente par le bout, il produit l'effet d'un granule

isolé; et l'observateur peu habitué à ce genre de recherches peut se croire en présence d'un micrososome entouré de rayons. J'ai vu des cellules qui contenaient peut-être une douzaine de ces petits asters.

Dans les cellules au repos, les filaments ou trabécules du réticulum courent dans tous les sens sans montrer pour la plupart aucune orientation marquée. Cependant, on leur reconnaît souvent une certaine velléité d'orientation ou tendance à suivre une direction plutôt qu'une autre. Quelquefois, on en distingue qui sont orientés selon des rayons de la cellule et centrés par rapport au noyau; il en est ainsi, quoique faiblement, dans la cellule de la FIG. 5. D'autres fois, on distingue des couches de trabécules plus fortes disposées d'une façon concentrique autour du noyau, c'est un cas qui n'est pas rare. Souvent, on en distingue qui sont orientées en trainées, en éventail ou en pinceau, qui divergent du moignon fusorial, s'il y en a un dans la cellule, FIG. 30 et 55. Mais en aucun cas, les filaments sont orientés sur un *centrosome*, une *sphère attractive*, ou sur un point de la cellule qu'on puisse appeler un *centre*.

Les filaments ou trabécules s'insèrent sur la membrane nucléaire et sur la membrane cellulaire. Mais ces insertions sont beaucoup plus rares qu'on ne le pense peut-être. En étudiant avec soin la surface des noyaux, on constate que relativement peu de filaments y adhèrent. Au contraire, un grand nombre d'entre eux, arrivés près du noyau, rebroussement chemin, comme s'ils voulaient l'éviter et vont se perdre de nouveau dans le réseau général. Il y a même beaucoup de noyaux qui paraissent ne posséder que des connexions tout à fait accidentelles avec le réticulum. C'est probablement pour ce motif qu'on trouve très fréquemment dans les dissociations, et quelquefois dans les coupes, des cellules énucléées, dont le noyau a été expulsé du cytoplasme sans qu'un lambeau du réticulum y adhère.

Ce fait, soit dit en passant, paraît prouver suffisamment que la membrane nucléaire appartient anatomiquement au noyau et non au cytoplasme.

Les trabécules du réticulum s'insèrent, comme il a été dit, sur la membrane cellulaire, mais ces insertions sont aussi beaucoup plus rares qu'on ne le pense peut-être. Très souvent, en arrivant près de cette membrane, elles rebroussement chemin comme si elles voulaient l'éviter, et vont se perdre de nouveau dans le réticulum. En tout cas, le cytoplasme peut pour ainsi dire à volonté se détacher par places de la membrane cellulaire. C'est ce qui arrive d'une façon normale pendant les cinèses. Ainsi

dans la FIG. 21 (vaguement) et dans les FIG. 44 (ici très nettement), 46, 47 et 59, on voit que le cytoplasme s'est retiré de la membrane sur toute l'étendue d'une plage circulaire qui entoure les pôles de la cellule, en laissant cette plage complètement vide de tout élément figuré, sauf les entonnoirs polaires, qui se maintiennent raides et détachés en son centre, FIG. 44 et 59. Ce phénomène se présente aussi, quoique plus rarement, dans les cellules au repos ou en prophase, comme par exemple dans la FIG. 55, où l'on voit le cytoplasme parfaitement détaché de la membrane sur une large plage qui a pour centre le moignon fusorial. Il n'y a pour moi aucun doute que le cytoplasme ne puisse être à un certain degré indépendant de la membrane cellulaire.

Les trabécules du réticulum cytoplasmique décrivent de nombreuses sinuosités; si l'on en pouvait isoler une sur toute sa longueur, elle se trouverait être certainement beaucoup plus longue que la distance d'un point quelconque de la cellule à la membrane cellulaire. En conséquence, elles ne sauraient, sans subir un degré de contraction incroyable, produire un effet de tension directe entre un point central du cytoplasme et la membrane cellulaire. Il n'y a rien dans ces cellules qui nous autorise à admettre l'hypothèse connue sous le nom de *Spannungsgesetz* ou loi de la tension de M. HEIDENHAIN, d'après laquelle les phénomènes de la cinèse trouveraient leur explication dans les tensions diverses de trabécules cytoplasmiques, dites *rayons organiques*, tendues entre les *centrosomes* et la membrane cellulaire. Il n'y a pas plus de *rayons organiques* dans ces cellules qu'il n'y a de *centrosomes* pour leur servir de centres d'insertion. Je n'ai du reste jamais vu de cellule qui me parût bâtie comme une roue de bicyclette.

Si l'observation de la cellule au repos ne nous offre rien qui nous autorise à admettre l'existence des *rayons organiques* de M. HEIDENHAIN, l'observation de la cellule en cinèse nous oblige à les rejeter. Car dans la cellule en cinèse, les *rayons organiques* seraient représentés par les trabécules principales, les trabécules fortes et homogènes des asters. Or, rien de plus facile que de s'assurer ici que ces trabécules ne s'insèrent pas sur la membrane cellulaire. Elles ne s'y insèrent pas plus qu'elles ne s'insèrent sur le corpuscule polaire, lorsque celui-ci existe. Il est facile de s'assurer au contraire que les rayons des asters, ou au moins l'immense majorité d'entre eux, n'atteignent pas la membrane cellulaire, mais se perdent dans le réticulum cytoplasmique, dont ils font partie intégrante par leurs ramifications terminales. Cette disposition a été figurée dans toutes les figures d'asters de ce travail et des deux travaux précédents.

Les mailles du réticulum sont remplies par un *enchylème granuleux*. Ce point est assez difficile à établir, mais je le crois parfaitement démontré. Les granules en question font l'effet d'une poussière extrêmement fine, qui se teinte par les colorants plasmatiques. On ne peut les confondre avec certains globules de dimensions plus fortes qui remplissent ces cellules à la suite d'une fixation excessive par les liquides osmiques et, plus rarement, par le sublimé corrosif. Ces globules ont été décrits, si je ne me trompe, comme éléments constitutifs de la cellule. Mais je les considère comme des productions artificielles.

Les granules véritables de l'enchylème cytoplasmique sont si petits que je n'ai pas essayé de les introduire dans mes dessins, sauf pour les asters, où j'ai essayé de les rendre, sans cependant avoir pu réussir à leur donner la finesse voulue.

Le cytoplasme peut contenir des amas ou des traînées de microsomes assez remarquables. Ces enclaves ont été décrites au commencement du chapitre II.

Le caryoplasme des spermatocytes. D'après mes observations, le caryoplasme a exactement la même structure que le cytoplasme, si ce n'est que les trabécules de son réticulum paraissent être en général plus fines que celles du réticulum du cytoplasme. Il contient donc un spongioplasme ou réticulum tout à fait semblable, et dans les mailles de ce réticulum un hyaloplasme ou enchylème granuleux d'une apparence identique à celui du cytoplasme. Ces faits se constatent avec une parfaite netteté sur des spermatocytes au stade de peloton segmenté. Le noyau s'étant à ce moment éclairci en partie par la métamorphose hyaline, ce qui reste de caryoplasme non modifié se détache nettement avec tous les caractères qui ont été décrits. Je ne comprendrais pas qu'en regardant les lambeaux de réticulum caryoplasmique représentés par exemple dans les FIG. 39 et 39bis, un observateur puisse se persuader qu'ils ne représentent que *des portions de charpente nucléaire, desquelles la chromatine a émigré* — *chromatinfreie Portionen des Kerngerüsts*. Les trabécules du réticulum se voient à côté des filaments achromatiques adhérents aux chromosomes et dérivant de la segmentation du boyau nucléinien, et s'en distinguent, pas toujours, naturellement, mais souvent.

La théorie de la structure du noyau que je viens d'esquisser, en disant que cette structure est réalisée dans les cellules que nous étudions en ce moment, est, comme on le sait, celle qui a été enseignée pour la première fois

par CARNOY. Elle constitue la contrepartie de la doctrine admise par l'école de FLEMMING, d'après laquelle les noyaux ne contiennent, outre l'élément chromatique que les partisans de cette doctrine se figurent exister toujours sous la forme d'un réseau, qu'un suc amorphe ou *Kernsaft*. Or, si j'insiste ici sur le fait que les noyaux que nous étudions ont bien la structure attribuée aux noyaux en général par CARNOY, et non celle qui leur est attribuée par FLEMMING, c'est que ce n'est point là un détail insignifiant, mais au contraire une question qui est grosse de conséquences.

Car, ou je me trompe fort, la doctrine du *Kernsaft*, si elle n'est pas la mère de la doctrine de l'origine cytoplasmique du fuseau, a du moins puissamment contribué à la faire accepter. Il répugne assez naturellement à l'esprit de penser qu'un liquide, tel que se le figurent les partisans du *Kernsaft*, puisse s'organiser en un ensemble d'éléments fibreux aussi solides, aussi tenaces que les filaments du fuseau. Pour l'école qui n'admet pas le caryoplasme, le noyau ne saurait guère former son fuseau; car, d'après cette doctrine, il ne contient pas en lui les éléments nécessaires pour l'édifier. Il fallait donc trouver un mécanisme par lequel le fuseau pût lui être apporté tout fait du dehors : et ce fut non seulement sans répugnance, mais avec reconnaissance, qu'on accueillit toute cette mythologie fantaisiste des fuseaux cytoplasmiques et des sphères attractives aux émanations pseudopodiales servant à les compléter.

CHAPITRE VI.

Revue critique.

La cinèse des spermatogonies. La cinèse des spermatogonies nous a montré une phase de repos normal, une phase de pelotonnement et de segmentation qui n'a rien d'anormal, une phase de scission longitudinale normale et remarquable par la régularité de ses figures, une couronne équatoriale qui paraît normale, si l'on en juge d'après son aspect extérieur, enfin des anaphases qui ne diffèrent en rien d'essentiel de celles des cinèses ordinaires des tissus.

Mais elle nous a montré en outre une phase fort remarquable, intercalée au milieu des prophases ordinaires, quelque chose de surajouté aux opérations de la cinèse ordinaire, — la *phase de l'éparpillement* des segments-filles. L'introduction de cette phase nouvelle dans le cycle cinétique est-elle une chose en quelque sorte accidentelle, un épiphénomène, déterminé par des circonstances que nous ignorons, mais non essentielle? Ou bien est-ce au contraire un phénomène de nature entièrement essentielle, pour ainsi dire quelque chose de voulu?

Je crois que nous sommes obligé d'admettre que c'est une chose voulue.

Cette nouvelle phase est intercalée entre la phase de la scission longitudinale des segments du peloton et la couronne équatoriale. Or la phase de la scission longitudinale se présente ici avec des caractères qui nous permettent d'assurer, aussi positivement que possible, qu'aucune nouvelle phase de la sorte ne serait nécessaire, pour des motifs d'ordre mécanique, pour arriver à la couronne équatoriale. Que le lecteur veuille bien se reporter à la fig. 10! Les segments nucléiniens y sont évidemment disposés de telle sorte qu'avec un déplacement minime ou nul ils se trouveraient agencés en couronne équatoriale. Évidemment, tout ce qu'ils auraient à faire pour cela, ce serait de se raccourcir et de s'orienter sur place, de façon à avoir les sommets des anses tournés vers l'axe de la figure et leurs bouts libres tournés en dehors. C'est ce qui se fait dans les cinèses ordinaires : pour quoi cela ne se fait-il pas ici?

La réponse, pour moi, n'est pas douteuse. Cela ne se fait pas ici parce que, si cela se faisait, nous aurions une cinèse ordinaire divisant le noyau en deux noyaux-filles identiques entre eux et identiques au noyau-mère, et que la nature ne veut pas d'une cinèse ordinaire. Au contraire, elle veut une cinèse fournissant des noyaux-filles qui ne sont pas identiques entre eux ni au noyau-mère. Elle atteint ce but en éparpillant les segments de telle sorte que les couples de segments-sœurs ne se retrouvent pas nécessairement ensemble dans la couronne équatoriale, pour être de là régulièrement distribués entre les deux pôles, mais de sorte que la couronne se trouve composée en partie du moins de couples à antimères hétérogènes. Cette disposition conduit à la formation de noyaux n'ayant pas une composition identique.

En un mot, l'éparpillement des segments rend possible une *division réductionnelle* de WEISMANN, mais qualitative seulement, et non quantitative en même temps.

Qu'il me soit permis de rappeler en aussi peu de mots que possible, ce que c'est que la *division réductionnelle* de l'ingénieuse hypothèse de WEISMANN.

WEISMANN admet que c'est le boyau nucléinien qui recèle et transmet les qualités héréditaires de la cellule, les tendances qu'elle a reçues de ces ancêtres et qu'elle transmettra en partie à sa progéniture : *vitaī lampada tradit*. Il admet aussi que ces qualités ou tendances sont liées matériellement aux *microsomes* du boyau, c'est-à-dire aux renflements de cet élément qui sont aussi connus sous le nom de granules de PFITZNER, et auxquels pour marquer leur caractère de *plasmes ancestraux* il donne le nom de *ides*. Ces microsomes ou ides sont d'habitude distribués dans le boyau selon une série linéaire unique, de sorte que les divers segments métamères du boyau, contenant des ides de provenances et de qualités diverses, sont qualitativement différents entre eux. Lorsque dans la cinèse ordinaire le boyau subit la scission longitudinale, cette scission n'est autre chose que le résultat de la division, selon des axes transversaux, des microsomes ou ides. En conséquence, chaque segment-sœur résultant de la scission reçoit en partage un héritage *identique* de moitiés de microsomes, et sa constitution en ides est identique à celle du segment-mère. La cinèse ordinaire est donc une *division équationnelle*. Mais si dans une division la scission longitudinale est supprimée et remplacée par une division transversale qui n'intéresse pas les ides, mais les laisse entiers, cette division est *réductionnelle*, et donne lieu à des noyaux à chromosomes qualitativement différents de ceux du noyau-

mère. Elle est réductionnelle, parce que les ides ne s'étant pas divisés, il ne peut y en avoir dans chaque chromosome-fille qu'un nombre moitié de celui du chromosome originel. Elle donne lieu à des noyaux qualitativement différents du noyau-mère, parce que les chromosomes-filles étant des métamères et non des antimères contiennent d'après l'hypothèse des ides différents.

On voit facilement qu'une telle division opérerait une réduction du nombre des ides, mais non une réduction du nombre des chromosomes. Or pour WEISMANN, partisan de l'hypothèse de l'individualité des chromosomes, il est nécessaire qu'il y ait aussi une réduction de moitié du nombre des chromosomes pendant l'évolution des produits sexuels, pour expliquer le fait d'observation que le nombre des chromosomes fourni aux pronuclei mâle et femelle est toujours la moitié de celui qui se constate dans les cellules embryonnaires et les cellules des tissus. Cette réduction numérique, WEISMANN pense quelle doit être réalisée par une cinèse, dans laquelle non plus des moitiés de chromosomes, mais des chromosomes entiers, indivis, seraient distribués entre les deux noyaux. Une telle cinèse donnerait, comme on le voit, à la fois une réduction qualitative et une réduction quantitative.

Le but de la réduction quantitative serait de rendre possible la conjugaison des pronuclei sans doubler à chaque fécondation le nombre de chromosomes caractéristique de l'espèce. Le but de la réduction qualitative serait de rendre possible une plus grande variation dans la progéniture d'un même couple. En effet, s'il n'y avait point de division réductionnelle qualitative, toutes les cellules issues des nombreuses divisions de la spermatogénèse ou de l'ovogénèse seraient *identiques* quant à la composition en ides de leurs noyaux; *et tous les enfants d'un même couple auraient en partage un héritage identique de plasmés ancestraux et se ressembleraient tous*. Ce qui n'est pas le cas.

Un schéma très simple suffira maintenant pour faire voir que l'éparpillement des segments-filles avant la formation de la couronne équatoriale rend possible une réduction de WEISMANN, mais une réduction qualitative seulement et non quantitative en même temps. Je pense que ce processus a sur les autres processus qui ont été admis comme réductionnels l'avantage de nous offrir une division non équationnelle, sans nous obliger à admettre l'existence des ides de WEISMANN, conception hypothétique dont il serait sage de ne pas s'embarrasser sans nécessité.

Un boyau nucléinien se divise en les segments *A, B, C, D*. Dans la

cinèse ordinaire ces segments, après avoir subi la scission longitudinale, donnent la couronne équatoriale $\begin{smallmatrix} a, b, c, d \\ a, b, c, d \end{smallmatrix}$

En conséquence, chaque noyau-fille recevra les éléments a, b, c, d ; et les deux seront forcément identiques entr'eux et au noyau-mère.

Mais si, après la scission longitudinale, il y a éparpillement des segments-filles, nous pouvons avoir une couronne équatoriale tout autrement constituée. L'élément a de la série supérieure, par exemple, peut ne pas rester uni à sa sœur, mais avoir pris la place de c de la série inférieure, celui-ci passant dans la série supérieure. Nous aurions alors une couronne équatoriale composée ainsi: $\begin{smallmatrix} c, b, c, d \\ a, b, a, d \end{smallmatrix}$. Les deux nouveaux noyaux c, b, c, d et a, b, a, d seraient différents entr'eux et différents du noyau-mère.

Poursuivons encore ce processus. La cellule a, b, a, d peut se diviser de nouveau, non selon la cinèse équationnelle, qui donnerait la couronne $\begin{smallmatrix} a, b, a, d \\ a, b, a, d \end{smallmatrix}$ mais avec éparpillement. Pendant l'éparpillement, b et d de la série supérieure peuvent changer de place avec a et a de la série inférieure, car il n'est nullement nécessaire que dans l'éparpillement deux segments seulement changent de place. Alors nous aurons la couronne $\begin{smallmatrix} a, a, a, a \\ b, b, d, d \end{smallmatrix}$ qui donnera naissance aux deux nouveaux noyaux a, a, a, a et b, b, d, d . On le voit, ce processus est non seulement un processus de *différentiation*, produisant à chaque division des noyaux différents entr'eux; mais il est aussi un processus d'*élimination* et de simplification. Chaque changement de place d'un segment constitue une élimination de ce chromosome de la couronne-fille à laquelle il aurait appartenu, si les choses s'étaient passées comme dans la cinèse équationnelle. Cette simplification va si loin qu'au bout de peu de divisions nous pouvons avoir des noyaux qui sont réduits au point de n'avoir plus que des chromosomes d'une seule sorte, comme dans le noyau a, a, a, a .

Je pense donc que l'éparpillement des segments rend possibles des divisions réalisant une des conditions postulées par WEISMANN, l'introduction de la variété dans l'ensemble des cellules sexuelles. Ce fait nous permettrait de comprendre *pourquoi tous les enfants d'un même couple ne se ressemblent pas comme des jumeaux*. L'éparpillement des segments dans les cinèses des spermatogonies réalise cette variété beaucoup plus complètement que ne le fait le processus supposé par WEISMANN de la dimidiation du nombre

des chromosomes par une cinèse qui distribuerait aux couronnes-filles des chromosomes entiers au lieu de moitiés de chromosomes. Ce processus, en effet, ne portant que sur une seule cinèse ne saurait donner lieu qu'à *deux* cellules *différentes*, tandis que le processus de l'éparpillement, se répétant à travers les innombrables cinèses de la multiplication des spermatogonies, peut donner lieu à autant de cellules *différentes* que le permet la loi arithmétique des combinaisons : ce qui pour 24 chromosomes donnerait un chiffre extrêmement élevé.

Je n'insiste pas sur le fait indiqué plus haut que l'éparpillement des segments peut avoir pour effet une grande simplification des noyaux, car nous ne voyons pas en ce moment quel rôle une telle simplification pourrait bien jouer dans l'économie de la reproduction.

Quant à la deuxième condition postulée par WEISMANN et par d'autres, la dimidiation du nombre de chromosomes en vue de permettre la conjugaison des pronuclei sans doubler le nombre des chromosomes dans les cellules embryonnaires, la cinèse avec éparpillement ne la réaliserait pas. Les deux cinèses suivantes ne la réalisent pas non plus chez les *Helix*. Mais j'estime que cela ne doit pas nous inquiéter. La nécessité supposée de cette réduction numérique repose uniquement sur l'hypothèse de l'individualité et de la persistance des chromosomes. Or, j'espère démontrer dans une autre communication que les spermatozoïdes mûrs chez les *Helix* ne contiennent non seulement point de chromosomes persistant comme tels, mais encore point de chromatine à l'état figuré. La chromatine qu'ils contiennent, si tant est qu'ils en contiennent, y est à l'état de dissolution.

Des cinèses semblables à celle que nous étudions en ce moment, c'est-à-dire possédant une phase d'éparpillement avant la couronne équatoriale, ont-elles déjà été décrites ailleurs?

Je n'ai pu trouver dans la littérature qu'un seul cas où il soit fait une mention expresse d'une phase d'éparpillement (1). Ce cas est celui qui a

1. Dans le travail récent de AUERBACH, *Untersuchungen über die Spermatogenese von Paludina vivipara*; Jenaische Zeitschr. f. Naturw., XXX, 4, 1896, p. 365, se trouvent une figure, fig. 8 k de la Pl. XXI, et une description, p. 462 et 468 du texte, qui peuvent se rapporter à une phase d'éparpillement comme celle que nous étudions ici. Mais je n'ai pas pu me convaincre que AUERBACH ait bien établi la sériation de ses figures; je ne vois pas de preuve que les 16 grains de sa fig. 8 k soient réellement issus de la division des 4 anes de sa fig. 8 i; en conséquence, la preuve fait défaut qu'ils contiennent des segments sœurs. J'ajouterais qu'il me semble même douteux que AUERBACH ait bien établi la sériation des cinèses qu'il décrit.

été observé par JULIN (1) dans l'ovogénèse de *Styelopsis grossularia*. Les quatre chromosomes s'y divisent, dit JULIN, par scission longitudinale en huit chromosomes secondaires qui se dispersent dans le noyau sans aucun ordre, et séparés à tel point qu'on ne reconnaît plus d'indice d'une distribution par paires. Il me paraît fort probable que de pareilles phases ont été souvent aperçues, sans que leur signification exacte ait été reconnue.

CARNOY doit en avoir vu. En effet, nous lisons dans son mémoire sur *La segmentation de l'œuf chez les nématodes* (2), p. 77 et 78, que dans certains noyaux de l'*Ophiostomum mucronatum* le boyau se segmente, les segments subissent la division longitudinale, et que plus tard les bâtonnets, d'abord répandus dans tout le noyau, s'acheminent vers l'équateur pour y former une couronne de 24 bâtonnets. Plusieurs des figures et descriptions de la *Cytodiérèse chez les Arthropodes* du même auteur pourraient bien se rapporter également à des phases d'éparpillement.

Une phase d'éparpillement pourrait également, à ce qu'il me semble, avoir été observée dans la cinèse des spermatogonies de la salamandre.

Comme on sait, cette cinèse a été décrite par FLEMMING (3) sous le nom de *division homöotypique*. D'après FLEMMING, cette cinèse montre un spirème qui subit la scission longitudinale, puis se segmente, comme à l'ordinaire. Mais elle offre cette particularité que (4) les segments-sœurs sont très rapidement et complètement séparés, „dass die Spaltfäden rasch völlig getrennt werden“. Que cette dislocation a lieu avant la formation de la couronne équatoriale, c'est ce qui ressort de l'explication donnée plus loin par FLEMMING, p. 440, là où il dit que cette cinèse diffère de la cinèse ordinaire en ce que la *Métacinèse* se place ici au début de la figure monocentrique, alors que dans la cinèse ordinaire elle en constitue la fin, „darin, dass die Metakinese hier schon in den Anfang der monocentrischen Form fällt, während sie bei jener das Ende derselben bildet“ — (l'expression *métacinèse* dans ce passage signifie simplement *dislocation des segments-sœurs*, comme il ressort de l'explication de la fig. 37, p. 403).

Le texte de FLEMMING, malheureusement très peu détaillé, suggère

(1) JULIN : Bull. sc. de la France et de la Belgique, XXV, 1893; cité d'après RUEBERT : *Eig.b. der Anat.*, III, 103 (1894), p. 551.

(2) J. B. CARNOY : *La Cellule*, III, 1, 1886, p. 63.

(3) FLEMMING : *Neue Beiträge zur Kenntnis der Zelle*; *Arch. f. mik. Anat.*, XXIX, 3, 1887, p. 389.

(4) *Ibidem* : l. c., p. 439.

donc un éparpillement plus ou moins prononcé. Mais les figures de FLEMMING, que l'on pourrait être tenté d'attribuer à une phase d'éparpillement avant la couronne équatoriale, sont interprétées différemment par lui, c'est-à-dire comme représentant des métaphases. Les figures auxquelles je fais allusion sont les FIG. 36 à 40 de la Planche XXV. Dans la première de ces figures, FLEMMING voit une couronne équatoriale, dans les autres des métacinèses. Ce n'est qu'avec beaucoup d'hésitation que je me permettrai de critiquer l'interprétation de ces figures, à laquelle s'est arrêté l'éminent cytologiste : mais je me hasarderai à émettre un doute. La FIG. 36 de FLEMMING, qu'il donne comme couronne équatoriale, est une figure assez irrégulière, oblique, à éléments assez nettement éparpillés, tout en montrant un certain parallélisme entr'eux. Elle ressemble assez à notre FIG. 19 pour qu'on puisse admettre, — et j'avoue que cela me paraît la supposition la plus probable — que les deux représentent la même phase. Or j'ai trouvé, comme on se le rappellera bien, que la FIG. 19 ne représente pas la couronne équatoriale, mais une phase pré-équatoriale, la véritable couronne étant représentée par une image parfaitement régulière et beaucoup plus rare, celle de la FIG. 20. J'admettrais difficilement qu'une figure irrégulière puisse représenter une couronne équatoriale. Il me semble que la couronne équatoriale indique le moment précis de la vie de la cellule où toutes les forces cinétiques, qui sont en train de se libérer en elle, se trouvent en état d'équilibre parfait : et qu'en conséquence cette figure doit être d'une régularité frappante. Il est peut-être permis de penser qu'il en est ainsi des spermatogonies de la salamandre ; qu'elles possèdent une couronne équatoriale régulière, mais rare, comme la FIG. 20, et que par suite de sa rareté cette figure a échappé à FLEMMING. Alors sa FIG. 36 aux segments éparpillés serait une phase pré-équatoriale. Peut-être en pourrait-on dire autant de ses FIG. 37 à 40.

Cette interprétation me paraît d'autant plus permise que FLEMMING (1) raconte que lui-même avait longtemps interprété ces figures comme étant des formes d'aster (*Aster-Formen*) précédant la métacinèse, et que le seul motif pour lequel il a abandonné cette interprétation, c'est que le nombre de segments observé était double de celui des dyasters, ce qui lui parut incompréhensible d'après les données de la cinèse ordinaire. J'avoue que je n'ai pas compris d'après le texte de FLEMMING pour quel motif il a changé d'avis.

(1) FLEMMING : loc. c., p. 441.

La cinèse des spermatocytes I. La cinèse des spermatocytes I débute comme une cinèse ordinaire par la segmentation et la scission longitudinale de l'élément nucléinien. Elle en diffère par un nouveau processus intercalé entre la phase de peloton segmenté et divisé longitudinalement et la couronne équatoriale, c'est-à-dire par le processus de la formation des ellipses ou anneaux et la fusion définitive des segments secondaires en des chromosomes indivis.

Ce nouveau processus est-il une chose accidentelle, un épiphénomène provoqué par exemple par la forte contraction des segments nucléiniens pendant les prophases, et sans signification essentielle? Ou bien, est-ce au contraire un phénomène essentiel en lui-même et pour ainsi dire une chose voulue?

Comme pour la phase d'éparpillement des spermatogonies, je crois que nous sommes obligé d'admettre que c'est une chose voulue.

Car l'étude la plus approfondie des images du stade de peloton segmenté ne nous offre rien qui nous fasse comprendre pourquoi les segments existant à ce stade ne passeraient pas sans métamorphose à la figure de la couronne équatoriale. Pour le faire, ils n'auraient qu'à se lisser et peut-être à se contracter un peu, et à s'agencer en couronne. Mais au lieu de cela, ils s'engagent dans un processus des plus compliqués, aboutissant à une métamorphose profonde. J'admets volontiers qu'une simple contraction de la substance des segments secondaires pourrait aboutir à la production de bâtonnets très denses et très trapus et qu'elle pourrait même aboutir à confondre deux bâtonnets-sœurs en un chromosome unique. Mais une simple contraction de cette substance ne saurait guère avoir pour effet la production des curieuses figures de segments à bouts renflés simulant des paires de haltères accouplés, d'anneaux et d'ellipses, qui accompagnent la métamorphose de ces éléments. On conçoit même difficilement qu'une simple contraction pût amener la fusion totale et intime de la substance de deux segments secondaires, primitivement nettement séparés, en un seul chromosome. Force nous est donc d'admettre que ce processus est un processus voulu, et qu'il a pour but la fusion en un seul élément des deux éléments préalablement séparés par la scission longitudinale.

Le lecteur sait sans doute que de semblables images sont très répandues dans la spermatogénèse, et qu'on leur a donné des interprétations différentes de celle à laquelle je m'arrête pour les spermatocytes des *Helix*. La formation des ellipses aux dépens des segments secondaires issus du

peloton nucléinien a été observée et décrite en détail par FLEMMING(1) dans les spermatocytes de la salamandre.

Ce phénomène constitue le trait essentiel de la cinèse que FLEMMING a nommée *division hétérotypique*. Chez la salamandre, le mode de formation des ellipses est identique à celui que j'ai décrit pour celles des spermatocytes des *Helix*, mais le processus ne se poursuit pas aussi loin qu'ici. Chez la salamandre, d'après la description de FLEMMING, il se forme des ellipses portant des renflements qui indiquent la place des bouts libres des segments accolés; mais les ellipses ne subissent pas de changement ultérieur, elles ne se contractent pas, leur lumière ne s'efface pas, et il n'y a pas fusion totale de la substance des segments secondaires, tout au plus y a-t-il copulation de la substance des deux segments par leurs bouts anastomosés. FLEMMING admet que les deux segments se conservent ainsi jusqu'à ce que, à la dislocation de la couronne équatoriale, ils soient distribués entre les deux pôles du fuseau. En conséquence, FLEMMING admet que cette curieuse cinèse n'est qu'un cas particulier de la cinèse ordinaire, et qu'elle est conduite selon les principes et avec l'effet d'une division équationnelle.

Cette interprétation a été adoptée par plusieurs auteurs pour les ellipses observées dans d'autres spermatogénèses. Je ne discute pas pour le moment l'exactitude de cette interprétation pour les objets étudiés par ces auteurs; mais je dois dire que je ne la trouve nullement applicable aux *Helix*. Car ici, comme il a été dit, il y a fusion totale de la substance des deux segments en un chromosome unique et homogène. Il est impossible, en observant des chromosomes achevés comme ceux des FIG. 39 à 43, d'attribuer à l'un ou à l'autre de leurs côtés le caractère de représentant persistant de l'un ou l'autre des segments sœurs qui ont contribué à former ces corps si homogènes en apparence. Par conséquent, il n'est plus possible d'affirmer que la séparation qui a lieu à la métacinèse est une séparation d'éléments correspondant à ces segments: ce n'est pas une séparation d'éléments préformés, c'est une nouvelle division, par segmentation transversale, d'un nouvel élément.

Ne serait-il pas possible que le processus décrit chez la salamandre ne soit qu'une forme abrégée de ce processus de fusion totale et qu'on puisse lui attribuer une signification tout autre que celle d'une division équationnelle des cinèses ordinaires? J'avoue que pour ma part j'hésite à lui attribuer la signification d'une division par scission longitudinale.

(1) FLEMMING: *Neue Beiträge etc.*; Arch. f. mik. Anat., XXIX, 3, 1887, p. 403.

Nous avons vu que, pendant la formation des anneaux ou des ellipses, il se produit des images de haltères accouplés par paires, ou bien, ce qui revient au même, de groupes de quatre boules réunies par des ponts. De semblables images ont été décrites dans les spermatogénèses les plus diverses, et représentent évidemment un phénomène des plus répandus. Les auteurs qui les ont décrites ont été surtout frappés de l'aspect quaternaire que présentent ces images. Ils décrivent ces groupes chromatiques sous le nom de *Viererguppen*, terme qu'on pourrait rendre en français par celui de *tétrades*. Les auteurs les regardent comme composés de quatre éléments et non de deux; aussi admettent-ils généralement que deux de ces éléments sont séparés par une première cinèse, et les deux autres, sans intervention d'une phase de repos, par une deuxième cinèse; de sorte que les cellules-filles recevraient chacune la moitié et les cellules-petites-filles chacune le quart de chaque tétrade.

Or, je pense que cette interprétation n'est pas acceptable dans le cas qui nous occupe, pour deux motifs. Le premier est que les groupes chromatiques à quatre boules ne sont ici en aucune façon des tétrades; ce sont des dyades si l'on veut, mais rien de plus. Les deux boules constituées par les renflements terminaux de chaque segment sont toujours reliées par la portion moyenne de ce segment: elles ne deviennent jamais des boules isolées, elles ne sont jamais autre chose que des renflements terminaux. Et le groupe chromatique ne contient jamais à aucun moment plus de deux éléments. Le deuxième motif est qu'ici ces éléments, qu'on les conçoive doubles ou quadruples, ne persistent pas comme tels, mais se fusionnent en un élément unique.

Comme conclusion, il me paraît impossible de décider si la cinèse des spermatocytes I des *Helix* constitue une division équationnelle ou une division réductionnelle. Mais, en revanche, il me semble bien falloir admettre qu'en tout cas elle constitue une division bien différente de celle de la cinèse ordinaire.

Quel peut être le but de l'introduction de cette cinèse spéciale dans la série spermatogénétique? J'avoue que pour le moment je ne puis pas en proposer d'explication satisfaisante, ne fut-ce qu'à titre de simple hypothèse.

La cinèse des spermatocytes II. Cette cinèse diffère de la cinèse ordinaire en ce que les phases de pelotonnement et de segmentation paraissent être supprimées, les chromosomes hérités des spermatocytes I ayant conservé leur indépendance pendant le stade de repos. Elle en diffère aussi, —

et c'est une différence bien plus essentielle, — par la constitution de la couronne équatoriale. Dans la cinèse ordinaire, les couples de chromosomes-sœurs se disposent dans la couronne de telle sorte que le plan qui les sépare coïncide avec le plan de dislocation de la couronne, c'est-à-dire avec le plan équatorial, disposition qui assure que l'un des chromosomes-sœurs est distribué à l'un des pôles de la cellule, et l'autre à l'autre. Mais ici, ce qui entre dans la constitution de la couronne, ce ne sont plus des couples de chromosomes, mais des chromosomes simples. Ces chromosomes se placent dans la couronne de telle sorte que leur grand axe est parallèle au grand axe du fuseau, c'est-à-dire perpendiculaire au plan équatorial de la figure. Ils subissent dans cette position une *segmentation transversale*, et les moitiés *métamères*, non *antimères*, résultant de cette segmentation sont distribuées, l'une à l'un des pôles de la figure et l'autre à l'autre. Il en résulte que chaque noyau-fille reçoit non pas 24 chromosomes issus de la scission longitudinale de 24 segments primaires, mais 24 *demi-chromosomes* qui représentent les *moitiés métamères* de 24 chromosomes primaires.

En conséquence, la division des spermatocytes II est une division réductionnelle dans le sens de WEISMANN, qualitative et quantitative, mais non numérique. Elle est qualitative, parce que la division des chromosomes étant transversale fournit aux noyaux-filles des produits métamères et par conséquent, en vertu de l'hypothèse, hétérogènes de qualité. Elle est quantitative, parce que la période précédente de repos ayant été incomplète, il n'y a pas eu d'accroissement de l'élément nucléinien, qui se trouve par ce fait être réduit de moitié pour chaque noyau de spermatide par cette dernière division. Elle n'est pas numérique, car chaque spermatide reçoit en partage 24 éléments distincts.

De semblables cinèses paraissent être très répandues dans la spermatogénèse des groupes les plus variés d'animaux, car elles ont été décrites par un nombre considérable d'observateurs. L'un des premiers auteurs qui ont décrit ces cinèses avec détail et précision a été CARNOY, qui dans sa *Cytodiérèse chez les arthropodes* (1) en a donné de nombreux exemples sous le nom de *cinèses à bâtonnets recourbés*. Pour plusieurs de ces cinèses, mais non pas pour toutes, CARNOY a admis comme *probable*, mais *non comme entièrement certaine*, la division transversale des bâtonnets au sein de la

(1) CARNOY : La Cellule, I, 2, 1885.

couronne. Cette admission, tout entourée de réserves qu'elle l'était(1), a été l'objet d'une critique de la part de FLEMMING(2). Celui-ci a objecté à CARNOY que les figures en question pourraient bien n'être que des images de division se rapportant au mode décrit par lui sous le nom de *division hétérotypique*, mode dans lequel, selon FLEMMING, la division qui se fait à l'équateur, quoique en apparence transversale, n'est qu'une division longitudinale déguisée. Il me semble que cette critique porte à faux.

FLEMMING englobe en effet dans une réprobation commune sous le nom de *cinèses à bâtonnets droits* au moins deux sortes de cinèses très différentes. L'éminent cytologiste de Kiel paraît ne pas avoir remarqué que CARNOY avait nettement distingué entre des couronnes à *bâtonnets droits* et des couronnes à *bâtonnets recourbés*. Les premières correspondent peut-être en partie aux couronnes des spermatocytes I des *Helix* et aux cinèses hétérotypiques de FLEMMING. Or, pour ces cinèses à *bâtonnets droits* ou du moins pour quelques-unes d'elles, CARNOY avait lui-même admis la division longitudinale, témoins les nombreuses figures citées avec cette interprétation, p. 333 de son travail. L'explication de ces figures présentée par FLEMMING à titre d'interprétation nouvelle suggérée par l'étude des spermatocytes de la salamandre n'est donc pas autre que celle que CARNOY avait lui-même expressément donnée à ses figures.

En conséquence, pour ce qui regarde les figures à bâtonnets *droits* de CARNOY, la critique de FLEMMING tombe à faux. Elle ne pourrait s'adresser qu'aux figures à bâtonnets *recourbés*.

Celles-ci me paraissent, à n'en pas douter, représenter les cinèses des spermatocytes II des *Helix*. S'il en est ainsi, il y a de fortes raisons pour admettre que la division transversale que CARNOY leur avait attribuée à titre de probabilité seulement et non de certitude, s'y réalise effectivement, *et qu'elle n'a été précédée d'aucune scission longitudinale*. Comme je l'ai dit en effet, dans les spermatocytes II des *Helix*, je me suis convaincu qu'il n'y a point de scission longitudinale. En tout cas, ce n'est pas sur une analogie supposée avec les figures hétérotypiques de FLEMMING qu'on pourrait se fonder pour leur attribuer une division capable de s'expliquer par la séparation de moitiés issues d'une scission longitudinale et resoudées par les bouts. Car ces deux sortes de figures n'ont absolument rien de commun.

(1) CARNOY : op. cit., pp. 334 à 336.

(2) FLEMMING : *Neue Beiträge zur Kenntniss der Zelle*; Arch. f. mik. Anat., XXIX, 3, 1887, p. 389; le passage cité se trouve p. 452.

A la page 456 du mémoire de FLEMMING, l'éminent anatomiste pose comme condition de la démonstration d'une division transversale la démonstration préalable de l'absence de toute scission longitudinale dans la forme pelotonnée. Il ajoute : - Si CARNOY peut démontrer cela, je reconnaitrai volontiers que nous nous sommes tous trompés -. Or, cette condition, je crois l'avoir remplie. Comme je l'ai dit, je crois avoir la certitude que dans la cinèse qui nous occupe la scission longitudinale fait absolument défaut. Le lecteur sait du reste sans doute que la littérature récente de la spermatogénèse contient de nombreuses observations de divisions transversales dans les cinèses dites de *maturation*. De plus, la plupart des auteurs qui décrivent ces observations admettent que ces divisions se font sans que les éléments divisés aient passé par une phase de repos. En ce cas, il ne pourrait évidemment y avoir de scission préalable au sein de la forme pelotonnée; car la forme pelotonnée n'y existe pas.

Il serait difficile, je crois, de ne pas se rendre à l'évidence des faits. Aussi, dans son excellent rapport sur les progrès de la cytologie, publié dans les *Ergebnisse der Anatomie* pour l'année 1891, FLEMMING reconnaît (p. 81) comme étant connu depuis longtemps, que dans les cinèses ovogénétiques et spermatogénétiques il existe des divisions transversales de chromosomes. Il a donc avoué que sa critique de CARNOY, auquel il m'a fait l'honneur de m'associer pour une faible part, était dénuée de fondement.

CONCLUSIONS.

1. Les cellules basales, *ovules mâles* de DUVAL ou *cellules blastophorales* de BLOMFIELD, ne produisent pas les cellules spermatogénétiques qu'elles portent à leur surface. Elles ne jouent que le rôle de cellules supportantes et nutritives. Les noyaux de ces cellules possèdent une structure particulière qui est vraisemblablement en rapport avec leur fonction nutritive.

2. La spermatogénèse des *Helix* comprend trois catégories de cellules (sans compter les spermatides et sans compter les cellules sexuelles primordiales), se divisant selon trois types distincts de cinèse.

Ce sont les spermatogonies, les spermatocytes I et les spermatocytes II.

3. La cinèse des spermatogonies se distingue d'abord par une phase de peloton segmenté d'une régularité remarquable, simulant une corolle de fleur. Mais ce qui la distingue surtout, c'est la possession d'une phase singulière intercalée entre la phase de peloton segmenté et celle de couronne équatoriale, — la *phase de l'éparpillement* des segments secondaires.

Dans cette phase, les segments secondaires sont éparpillés sans ordre dans tout le noyau, de telle sorte qu'il paraît impossible que les segments-sœurs puissent tous se retrouver réunis dans la couronne équatoriale.

Il est possible que cette phase donne lieu à une division réductionnelle qualitative de WEISMANN.

4. La cinèse des spermatocytes I rappelle la cinèse dite à *bâtonnets droits* de CARNOY et celle dite *hétérotypique* de FLEMMING. Son trait essentiel consiste en la fusion en un chromosome unique des segments issus de la scission longitudinale d'un segment nucléinien primaire. Pendant la marche de ce processus de fusion, il se produit des figures d'anneaux ou d'ellipses, et des figures de boules réunies au nombre de quatre, qui sont sans doute les *Viererguppen* des auteurs. Mais ces tétrades, comme on pourrait les appeler, ne sont pas des formations quadripartites, elles ne sont jamais que bipartites. Elles ne sont jamais que des formations passagères, des étapes du processus de fusion des segments. Il en est de même de la formation des anneaux ou ellipses.

Les segments se fusionnent d'une façon totale et définitive en un chromosome unique. Ce chromosome subit dans la couronne équatoriale une

segmentation transversale à son axe de figure, sans que rien nous autorise à supposer que cette segmentation ne serait que l'achèvement de la scission longitudinale du segment nucléinien primaire, duquel ce chromosome a tiré son origine.

5. Entre la cinèse des spermatocytes I et la cinèse des spermatocytes II, il y a une phase de repos. Mais cette phase ne paraît pas être totale ni comprendre une reconstruction totale des noyaux. Au contraire, pendant cette phase, les chromosomes paraissent garder leur indépendance et persister jusqu'à la nouvelle cinèse.

6. La cinèse des spermatocytes II se distingue surtout par la structure et le mode de dislocation de sa couronne équatoriale. Cette couronne est composée de 24 bâtonnets recourbés, qui ne sont autre chose que les chromosomes hérités de la dernière cinèse, et qui n'ont subi aucune scission longitudinale pendant les prophases. Ces bâtonnets sont placés dans la couronne avec leurs axes parallèles à l'axe du fuseau, et dans cette position ils subissent une segmentation transversale. L'une des moitiés métamères produites par cette segmentation est distribuée à l'un des pôles de la figure, et l'autre à l'autre.

Cette cinèse est donc une division réductionnelle de WEISMANN, qualitative et quantitative, mais non numérique en même temps.

7. Il n'y a point de réduction numérique des chromosomes dans la spermatogénèse de l'*Helix pomatia*.

8. Le fuseau caryocinétique contient une portion axiale homogène, non différenciée en filaments et ne portant pas de chromosomes; elle a peut-être quelque rapport avec le fuseau central de HERMANN. Cet élément ne provient pas du cytoplasme, mais du noyau, et paraît être formé de nouveau par lui au commencement de chaque cinèse.

9. Le noyau, aussi bien que le cytoplasme, contient en nombre variable des *corpuscules sidérophiles*. Ces corpuscules paraissent être produits par le noyau et être expulsés de lui pendant le repos et lors de la cinèse. Ils représentent les centrosomes des auteurs. Mais ils ne constituent pas des centres et ne jouent aucun rôle mécanique ni dans la cinèse ni dans l'économie cellulaire à aucun moment.

10. Le caryoplasme, comme le cytoplasme, a une structure réticulée.

11. Le cytoplasme n'est centré par rapport à aucun centrosome et ne possède ni - rayons organiques - ni - sphères attractives -.

EXPLICATION DES FIGURES DES PLANCHES.

Toutes les figures ont été dessinées au grossissement de 1500, excepté celles pour lesquelles un autre chiffre a été indiqué. Toutes les figures se rapportent à l'*Helix pomatia*, excepté celles qui sont expressément attribuées à l'*Helix hortensis* ou à l'*Helix nemoralis*.

Toutes les figures proviennent de coupes à la paraffine faites sur du matériel fixé par le liquide fort de FLEMMING, ou par le liquide de HERMANN, excepté là où un autre mode de fixation a été indiqué. La méthode de coloration est indiquée pour chaque figure.

Il n'a été dessiné pour chaque cellule que les chromosomes qui sont nettement visibles et qui ont pu trouver place dans le dessin sans trop l'encombrer. Le chiffre réel est pour toutes les cellules celui qui a été indiqué dans le texte.

Toutes les cellules ont été soigneusement mesurées avant d'être dessinées, avec un micromètre spécialement réglé qui donne avec l'objectif employé pour les dessins 0,5 μ par division.

LÉGENDE GÉNÉRALE. — *Nk*, Nebenkern; *f.Nk*, filaments provenant du Nebenkern; *m.f.*, moignon de la portion équatoriale du dernier fuseau; *m.f.a.*, moignon du fuseau antérieur; *n.p.*, nucléoles plasmatiques; *c.*, corpuscules sidérophiles; *h.*, corps hyalin (excepté pour la FIG. 1).

PLANCHE I.

Spermatogonies.

FIG. 1. Coupe d'un cul-de-sac testiculaire d'un individu adulte; grossissement $\times 300$. *m.b.*, membrane basale; *ep.*, épithélium germinatif; *n.ep.*, ses noyaux; *c.b.*, cellules basales; *n.c.b.*, leurs noyaux; *spg.*, spermatogonies; *spc.*, spermatocytes I (il n'y a pas de spermatocytes II dans cette coupe); *spd.*, spermatides.

Wasserblau suivi de safranine.

FIG. 2. Noyau d'une cellule basale, voir le texte, p. 202 et 205. Hématoxyline au fer de M. HEIDENHAIN.

Les figures suivantes, jusqu'à la figure 29 inclusivement, sont toutes des spermatogonies.

FIG. 3. Spermatogonie, petite, au repos. *Helix hortensis*. Fixation au sublimé, coloration à l'hématoxyline au fer.

FIG. 4. Spermatogonie de la coupe de la FIG. 1. Repos ou début de la cinèse.

FIG. 5. Spermatogonie d'un escargot très jeune. Elle est très grosse et remarquable par l'abondance exceptionnelle de son cytoplasme. Notez le corps hyalin, *x*. Safranine suivie de violet de gentiane.

FIG. 6. Spermatogonie de taille moyenne. Phase du pelotonnement. Violet de gentiane par la méthode de BIZZOZERO.

FIG. 7. Le peloton se segmente. Même prép.

FIG. 8. Peloton segmenté, figure de corolle de fleur. Même prép.

FIG. 9. Même figure, vue polaire sur le fond du noyau, montrant les bouts libres des anses occupant tout le fond du noyau. Même prép. que la FIG. 1.

FIG. 10. Scission longitudinale des anses. Même prép. que les FIG. 6 à 8.

FIG. 11. La scission est achevée. Même prép.

FIG. 12. Figure rétractée de la même phase, figure pathologique, voyez le texte, p. 218. Même prép.

FIG. 13. Éparpillement des segments secondaires. Hématoxyline au fer de BENDA.

FIG. 13bis. Autre étude de la phase d'éparpillement, coupe optique. Même prép. que les FIG. 10 et 11.

FIG. 14. Figure étoilée résultant de la contraction des segments éparpillés vers le centre du noyau. Même prép.

FIG. 15. Figure en roue, effet de cette contraction à un stade plus avancé. Même prép. que FIG. 5.

FIG. 16. Les segments commencent à s'agencer en couronne équatoriale, voir le texte. Vue polaire. Bordeaux, hématoxyline au fer de M. HEIDENHAIN.

FIG. 17. Autre étude d'un stade pareil. *H. hortensis*. Même prép. que FIG. 3.

FIG. 18. Cellule au même stade, montrant le corps hyalin. Même prép. que FIG. 16.

FIG. 19. Couronne équatoriale pas encore régularisée. Même prép.

FIG. 20. Couronne équatoriale achevée. Même prép.

FIG. 21. Dislocation de la couronne ou métacinèse. Même prép.

FIG. 22. Autre étude du même stade. *Helix hortensis*; même préparation que les FIG. 3 et 17.

FIG. 23. Ascension polaire plus avancée. Chromosomes beaucoup plus longs. *Helix hortensis*; même préparation que la dernière figure.

FIG. 24. Autre étude du même stade. *Helix hortensis*; même préparation.

FIG. 25. Autre étude du même stade. *Helix pomatia*; même prép. que FIG. 15.

FIG. 26. Autre étude du même stade. *Helix hortensis*; même préparation que FIG. 24.

FIG. 27. Couronnes polaires plus avancées, compactes. Même préparation que FIG. 6. Le cytoplasme n'a pas été dessiné.

FIG. 28. Même stade, couronnes très étroites. *Helix nemoralis*; coloration par le liquide EHRLICH-BIONDI.

FIG. 29. Plasmodiérèse, reconstruction des noyaux-filles. Figure de reconstruction ouverte. Corps hyalins apparents.

PLANCHE II.

Spermatoctes I.

Les figures suivantes, jusqu'à la figure 52 inclusivement, se rapportent toutes aux spermatoctes I.

FIG. 30. Spermatoctes I, de taille moyenne. Phase de pelotonnement du noyau. Corps hyalin apparent. Hématoxyline au fer de M. HEIDENHAIN.

FIG. 31. Noyau au stade de peloton segmenté, débuts de la scission longitudinale. Hématoxyline au fer de BENDA.

FIG. 32. Scission longitudinale plus avancée. Même prép. que FIG. 16.

FIG. 33. Même stade environ, mais la segmentation transversale n'est pas achevée dans toutes les parties du noyau. En revanche, on voit que certains des bouts des segments secondaires demeurent unis ou se sont réunis. Hématoxyline au fer de BENDA.

FIG. 34. Les segments secondaires s'écartent par leurs milieux pour former des ellipses. Même préparation.

FIG. 35. Cellule à la même phase. Dans le noyau, formation de *Viererguppen* ou tétrades et d'ellipses. Nebenkern. A côté de lui, la section d'une bande péri-nucléaire sombre, *c. m.*, de *cyto-microsomes*. Même prép. que FIG. 1.

FIG. 36. Diverses images, tétrades et autres, de différentes étapes de la formation des ellipses. Même prép.

FIG. 37. Contraction des ellipses, rétrécissement de leur lumière. Même prép. que FIG. 33.

FIG. 38. Contraction plus avancée, la lumière des ellipses a disparu. Cellule voisine de la dernière.

FIG. 39. Cellule à une phase légèrement plus avancée. Fusion totale des segments secondaires en un chromosome homogène. Des asters; les chromosomes tendent à se grouper près de ces asters. Corpuscules sidérophiles apparents, engagés dans le réticulum caryoplasmique. Hématoxyline au fer de M. HEIDENHAIN.

FIG. 39bis. Cellule-sœur de la précédente. Mêmes détails. Corpuscule polaire dans l'entonnoir polaire en haut, très petit.

FIG. 40. Chromosomes achevés, en place sur le fuseau. Même prép.

FIG. 41. Couronne équatoriale presque régularisée, vue polaire, 24 chromosomes. Cellule-sœur de la dernière.

FIG. 42. Cellule de la même colonie, couronne équatoriale. Centres des asters sombres et vagues, mais ne contenant pas de corpuscule central distinct. Ces centres sombres paraissent être produits par le tassement de l'enchylème granuleux des asters, et peut-être leur coloration est-elle due à ce que des corpuscules polaires sidérophiles se sont dissous en cette situation.

FIG. 43. Cellule à la phase de la couronne équatoriale, coupée. Il y a douze chromosomes; les douze autres se trouvent dans la coupe suivante. Corpuscules polaires, mesurant 0.5 μ , distincts, mais à contours un peu vagues. Même prép. que FIG. 30.

FIG. 44. Cellule en métacinèse, segmentation transversale des chromosomes. Dans le cytoplasme, au moins six corpuscules sidérophiles, ou *centrosomes* des auteurs, et de nombreux petits filaments sinueux, provenant probablement d'un Nebenkern désagréé. Notez les entonnoirs polaires, libres dans une plage circulaire de laquelle le cytoplasme s'est retiré. Hématoxyline au fer de M. HEIDENHAIN.

FIG. 45. Étude de la segmentation des chromosomes et dislocation des chromosomes-filles. Même préparation que FIG. 43.

FIG. 46. Métacinèse en partie plus avancée. 13 chromosomes en haut, 11 en bas, le reste se trouve dans la coupe suivante. Centrosomes très pâles dans le cytoplasme. Même préparation que les FIG. 39 à 42.

FIG. 47. Cellule en coupe, anaphase avancée. Point de corpuscules sidérophiles, quoique ce soit une préparation à l'hématoxyline au fer. Même préparation que FIG. 30 et 43.

FIG. 48. Cellule-sœur, anaphase plus avancée.

FIG. 49. Autre cellule de la même colonie, les couronnes polaires ne sont pas coupées et le chiffre de 24 chromosomes environ y a été constaté.

FIG. 50. Cellules-filles entières. Figures de reconstruction ouvertes. Le chiffre de 24 chromosomes environ a été constaté dans chaque noyau-fille. Corps hyalins apparents. Même préparation que FIG. 16.

FIG. 51. Noyau d'une autre cellule de la même colonie. Reconstruction un peu plus avancée. Corps hyalin.

FIG. 52. Noyau de cellule-sœur de la dernière figure. Le corps hyalin à moitié sorti du noyau, voir le texte.¹

PLANCHE III.

Spermatocytes II.

Toutes les figures, de 53 à 70 inclusivement, se rapportent à des spermatocytes II.

FIG. 53. Cellule au repos. Dans le noyau, on voit des chromosomes pâles, isolés, et de nombreux nucléoles. Point de corps clair dans le noyau. Hématoxyline au fer de BENDA.

FIG. 54. Début de la cinèse. Centrosomes plus foncés. Nebenkern en dégénérescence granuleuse, donnant une figure stellaire ou pseud-aster. Dans le noyau, de grands nucléoles et un corps hyalin. Wasserblau suivi de safranine.

FIG. 55. Prophase plus avancée, le noyau s'est éclairci. Environ 24 chromosomes ont été comptés. Même prép.

FIG. 56. Étude de chromosomes choisis dans des cellules de la même colonie que les deux dernières.

FIG. 57. Cinèse plus avancée, chromosomes tassés en un groupe central. Corps hyalin très grêle. Environ 24 chromosomes ont été comptés. Même prép.

FIG. 58. Membrane nucléaire disparue, mais la couronne équatoriale n'est pas encore régularisée. 23 chromosomes ont été comptés. Cellule fortement osmiquée. Corps hyalin apparent. Kernschwarz, hématoxyline au fer de M. HEIDENHAIN.

FIG. 58bis. Couronne équatoriale non complètement régularisée. 24 chromosomes. Même prép. que FIG. 44. Vue polaire.

FIG. 59. Couronne équatoriale parfaitement régularisée. Même prép. 17 chromosomes ont été comptés, et il y en a 5 autres dans la coupe suivante.

FIG. 60. Études de chromosomes pris dans des couronnes de la même colonie que la FIG. 59. Grossissement $\times 2000$.

FIG. 61. Chromosomes d'une couronne de la même prép. que les FIG. 50 à 52.

FIG. 62. Dislocation de la couronne. Les flèches indiquent le plan de séparation. Voir le texte. Bordeaux, hématoxyline au fer de M. HEIDENHAIN.

FIG. 63. Complément de la figure précédente.

FIG. 64. Autre étude d'une cellule au même stade, voir le texte. Hématoxyline au fer de BENDA

FIG. 65. Anaphase plus avancée. Même prép. que FIG. 62. Grossissement $\times 500$. Voir le texte.

FIG. 66. La même cellule au grossissement de $\times 1500$. Voir le texte

FIG. 67. Analyse définitive de la même cellule. Voir le texte.

FIG. 68. Cellule au même stade, coupée. Même préparation. Voir le texte.

FIG. 69. Autre étude d'une cellule au même stade, voir le texte. Bordeaux, hématoxyline au fer de M. HEIDENHAIN.

FIG. 70. Cellules-filles en reconstruction, figures ouvertes des noyaux. 24 chromosomes environ ont été nettement constatés dans chaque noyau. A droite, un corps hyalin dans le noyau.

FIG. 71. Schéma de la phase d'éparpillement des spermatogonies.

FIG. 72. Schéma de la couronne équatoriale des spermatogonies.

FIG. 73. Schéma de la couronne équatoriale des spermatocytes I.

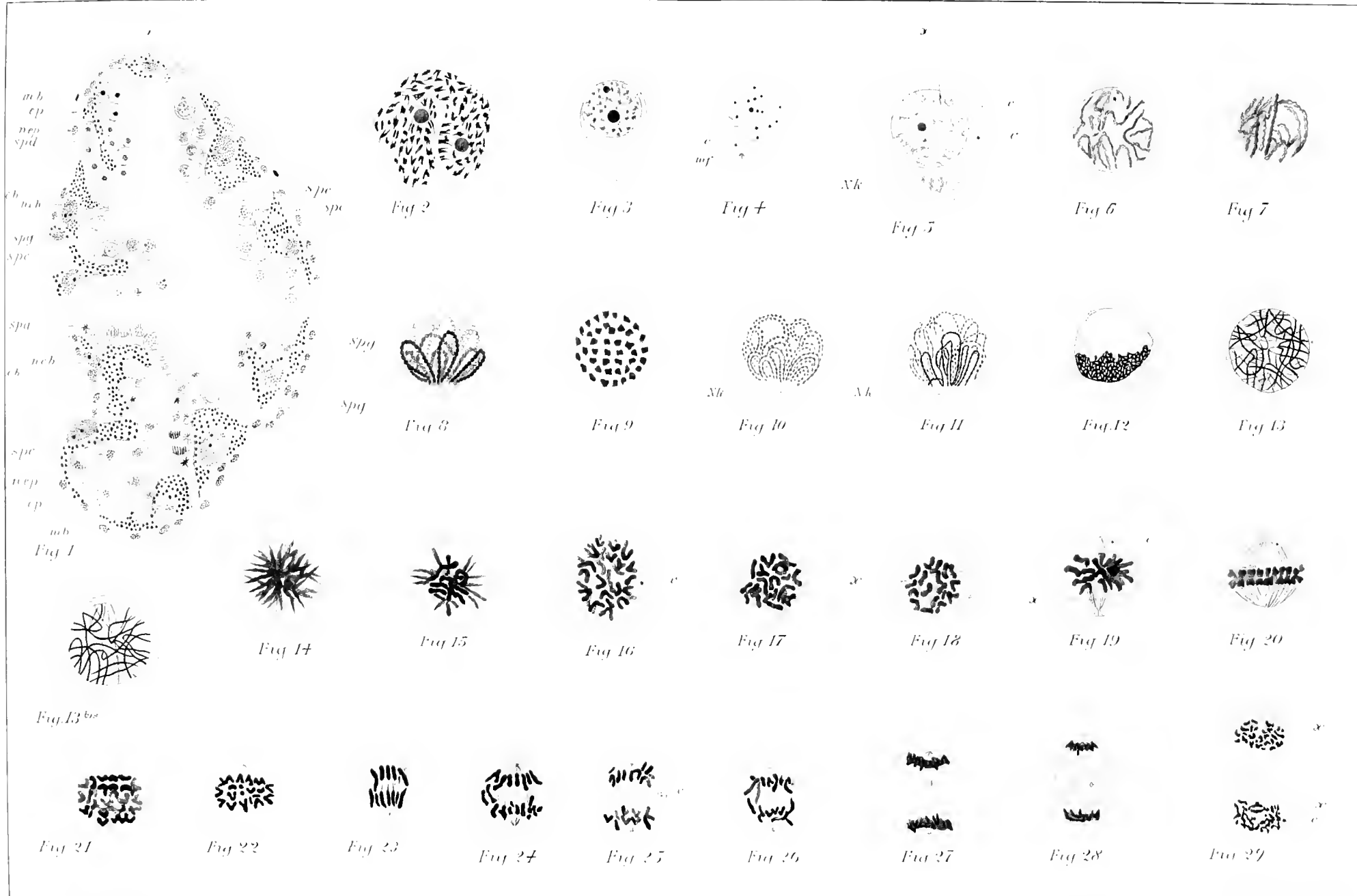
FIG. 74. Schéma de la couronne équatoriale des spermatocytes II.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	199
CHAPITRE I. Les spermatogonies	213
CHAPITRE II. Les spermatocytes I	227
CHAPITRE III. Les spermatocytes II.	238
CHAPITRE IV. Les corpuscules polaires et les corpuscules sidérophiles du cytoplasme et du noyau	244
CHAPITRE V. Le cytoplasme et le caryoplasme	253
CHAPITRE VI. Revue critique	258
Conclusions	270
Explication des figures	273

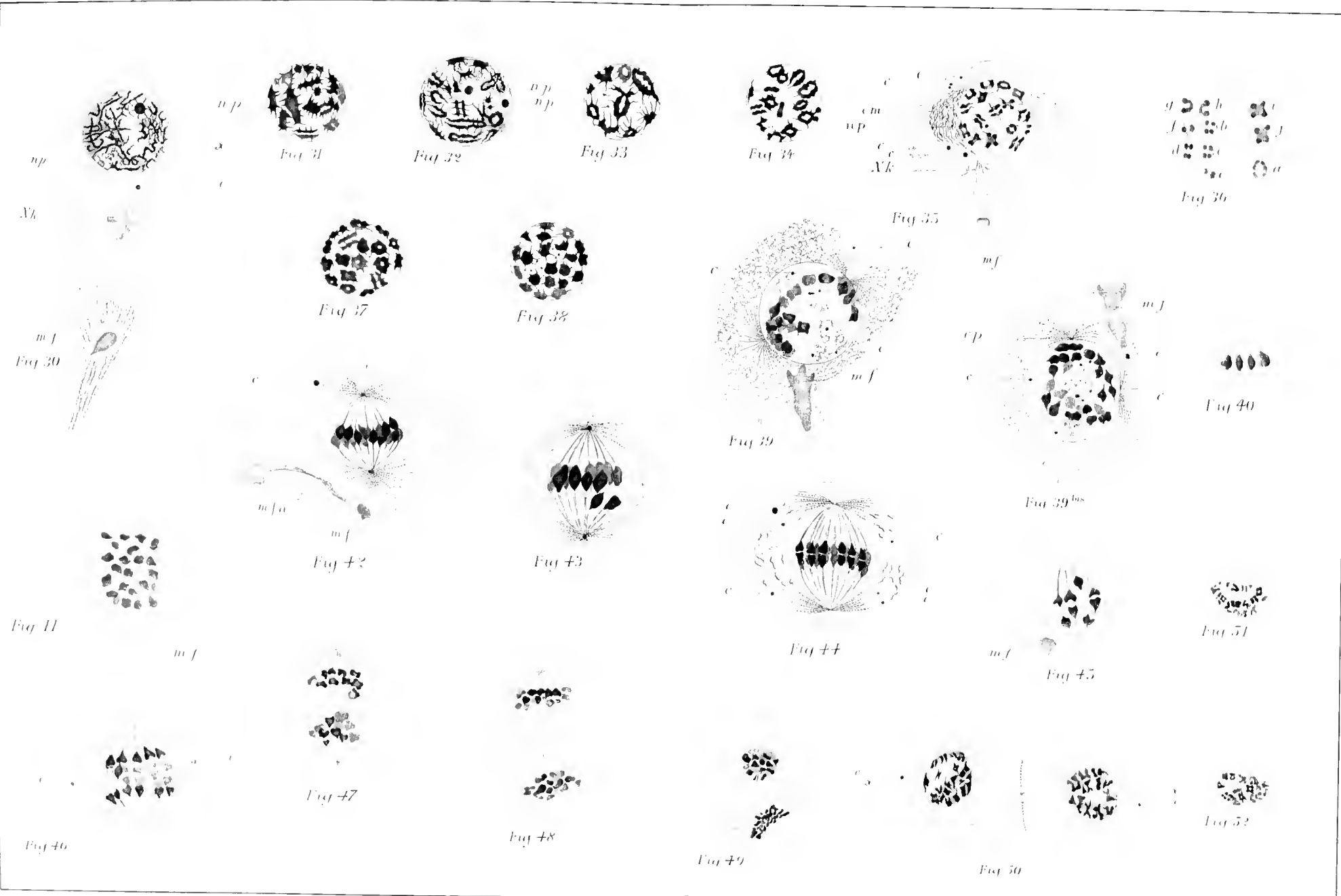
Spermatogenesis.

Planche I.

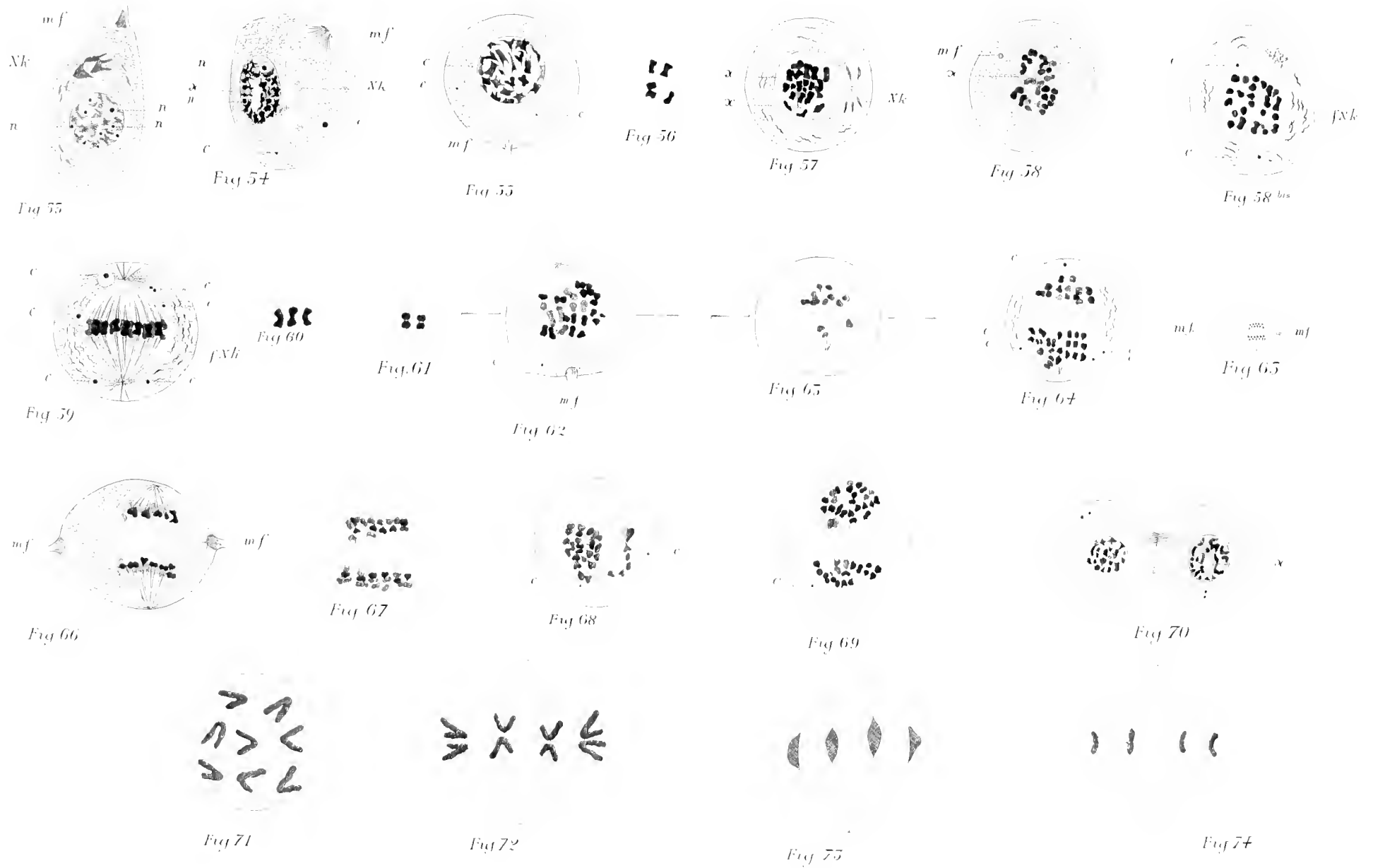


Spermatoocytes 1.

Penniche II



Spermatocytes II.



LA CELLULE

LA CELLULE

RECUEIL

DE CYTOLOGIE ET D'HISTOLOGIE GÉNÉRALE

PUBLIÉ PAR

J. B. CARNOY, PROFESSEUR DE BOTANIQUE ET DE BIOLOGIE CELLULAIRE,

G. GILSON, PROFESSEUR DE ZOOLOGIE ET D'EMBRYOLOGIE,

A L'UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN

AVEC LA COLLABORATION DE LEURS ÉLÈVES ET DES SAVANTS ÉTRANGERS

TOME XIII

2^e FASCICULE.

- I. Recherches sur la fermentation ammoniacale due aux Mucédinées simples,
par Oscar SEMAL.
- II. L'Anatomie fine de la cellule nerveuse,
par A. VAN GEHUCHTEN.
- III. Nouvelles recherches sur les sécrétions gastriques,
par le Dr A. VERHAEGEN.
- IV. Matières colorantes azotées chez des champignons,
par R. VAN DEN DRIES.

LIERRE

TYP. DE JOSEPH VAN IN & C^{ie},
Grand'place, 39.

PARIS

G. CARRÉ & C. NAUD, ÉDITEURS,
rue Racine, 3.

1897

RECHERCHES

SUR LA

FERMENTATION AMMONIACALE

DUE AUX

MUCÉDINÉES SIMPLES

PAR

Oscar SEMAL

DOCTEUR EN SCIENCES NATURELLES

(Mémoire déposé le 7 octobre 1897.)

RECHERCHES

SUR LA

Fermentation ammoniacale due aux Mucédinées simples

INTRODUCTION.

Le sujet de ce travail nous a été suggéré, lors d'une visite au laboratoire de Monsieur le Professeur BOURGE, qui nous montra un flacon d'une solution d'*Hayduck*, primitivement stérilisée, qui s'était accidentellement infecté malgré son tampon de ouate. Il renfermait un *Penicillium* en plein développement; sous le mycélium de ce champignon se trouvait un cristal assez volumineux, dont la longueur atteignait trois à quatre centimètres. La coexistence du *Penicillium* et du cristal attira notre attention et nous suggéra l'hypothèse vraisemblable qu'une relation devait exister entre la présence de celui-ci et celle du *Penicillium*.

L'analyse qualitative du cristal nous renseigna bientôt sur ses éléments, qui étaient : l'ammoniaque, le magnésium et l'acide phosphorique; d'où nous avons conclu que ce devait être un phosphate ammoniaco-magnésien.

Comment ce sel avait-il pu se former?

Pour répondre à cette question, nous avons songé à la composition du milieu dans lequel il s'était produit. La solution d'*Hayduck* renferme en effet de l'asparagine, du phosphate acide de potassium et du sulfate de magnésium. L'asparagine seule avait pu fournir la quantité nécessaire d'ammoniaque; elle avait donc dû subir une transformation sous l'influence soit du champignon, soit d'un ferment soluble sécrété par ce dernier, soit aussi d'un microbe quelconque; c'est ce qu'il s'agissait de vérifier.

LITTÉRATURE.

Préalablement à toutes recherches, nous avons consulté les travaux qui ont paru jusqu'à ce jour sur les fermentations ammoniacales. Les renseignements que nous avons pu recueillir sur ce sujet sont peu nombreux, et nous voyons les auteurs qui traitent des fermentations ammoniacales les attribuer le plus souvent à des micro-organismes, tels que ceux qui font fermenter l'urée pour la dédoubler en ammoniaque et acide carbonique d'après la formule :



Nous trouvons dans WILHEM ZOPF (*Die Pilze*, p. 185) : « SACHS⁽¹⁾ a prétendu que tous les champignons en pleine végétation, frais et bien vivants, peuvent dégager de l'ammoniaque; cette conclusion a été formulée à la suite d'expériences dans lesquelles il a obtenu des fumées, en tenant un papier imprégné d'acide chlorhydrique au-dessus des champignons écrasés.

BORZCOW⁽²⁾ a soumis différents champignons à chapeau à cette expérience; les résultats furent positifs; il croit même que c'est une fonction nécessaire.

ZOPF fait, au sujet de ces expériences, une remarque judicieuse qui mérite grande attention; c'est qu'elles ne sont pas concluantes du tout, attendu qu'on a oublié de prendre les précautions les plus élémentaires pour éviter l'invasion des microbes qui se développent si rapidement et produisent tous les phénomènes de la pourriture; l'ammoniaque dégagée dans ces conditions pourrait, par conséquent, très bien provenir d'autres agents de putréfaction.

Des recherches consciencieuses faites par WOLF et ZIMMERMAN⁽³⁾ sur des *Mucor*, *Penicillium*, Ergot de seigle, *Ammanita muscaria* et autres champignons à chapeau, il résulte qu'ils n'ont pu déceler aucune trace d'ammoniaque libre, mais bien de la triméthylamine; et ZOPF est de leur avis. »

(1) SACHS : *Handbuch der Experimental Physiologie*, p. 273.

(2) *Zur Frage über die Ausscheidung des freien Ammoniak bei den Pilzen*; Melang. biologiques. Bull. de l'acad. impér. de S.-Petersbourg, 1868, t. 14, p. 1—23.

(3) *Beiträge zur Chemie und Physiologie der Pilze*; Bot. Zeitung, 1871, p. 280.

A propos d'un ferment de l'urée étudié par MIQUEL, nous trouvons dans DUCLAUX (1) ce qui suit :

- Un des ferments de l'urée est une Mucédinée de la famille des *Aspergillus*, qui pousse dans l'urine un mycélium volumineux, d'où sortent des tubes fructifères à têtes légèrement renflées et portant une seule chaîne de spores incolores. Ces spores ont entre 6 et 7 μ de diamètre et on peut les voir, quand elles sont en grand nombre, formant au-dessus de l'urine des traînées denses, d'apparence farineuse. L'action de cette moisissure sur l'urée peut aboutir à la disparition de huit à dix grammes d'urée par litre. Lorsque la quantité d'urée transformée en carbonate d'ammoniaque atteint cinq à six grammes par litre, la moisissure dépérit. -

En 1876, MUSCULUS a signalé l'existence d'un autre ferment soluble sécrété par des *Schizophytes* dédoublant l'urée. Ce ferment a été étudié par MIQUEL en 1889 : BOURQUELOT le désigne sous le nom d'*Uréase*. Nous aurons l'occasion d'en parler un peu plus loin.

Telles sont les seules indications que nous avons pu recueillir au sujet des fermentations ammoniacales produites par les champignons et les micro-organismes.

Nous avons donc entrepris ce travail au double point de vue de savoir si les champignons Mucédinéens simples, qui se développent dans des milieux renfermant des composés azotés organiques à radical amidogène, peuvent produire un dédoublement de ceux-ci, en mettant en liberté de l'ammoniaque; et si ce dédoublement s'opère à l'aide d'un ferment soluble sécrété par ces champignons; questions qui jusqu'à ce jour n'ont guère fixé l'attention des savants qui se sont livrés à l'étude des fermentations.

(1) Encyclopédie de FREMY. — T. IX, Microbiologie, p. 702.

CHAPITRE I.

Existence d'une fermentation ammoniacale.

Préparation des expériences.

Nous avons mis en culture, dans des flacons renfermant une solution préparée suivant la formule *Hayduck* (1), différents champignons :

1° Un *Penicillium* que nous avons pris dans une culture faite sur plaque de gélatine; nous appellerons ce *Penicillium* à spores violettes, dont nous n'avons pu déterminer exactement l'espèce, *Penicillium violaceum*.

2° le *Fusarium Hordei*.

3° l'*Aspergillus niger*.

4° l'*Aspergillus fuliginosus*.

5° Un *Aspergillus* indéterminé que nous appellerons *Aspergillus B.*

6° le *Penicillium glaucum*.

7° le *Botrytis cinerea*.

Afin d'éviter toute infection, nous avons procédé à la mise en culture, en observant les plus minutieuses précautions : tous les milieux de culture ont été stérilisés à l'autoclave à une atmosphère pendant 20 minutes.

Nous avons placé à côté des solutions mises à l'autoclave un flacon témoin, pour vérifier si l'asparagine, comme certains auteurs le prétendent, n'avait pas subi de modification sous l'influence de l'ébullition sous pression et n'avait pas donné, par suite d'une hydratation, quelque peu d'aspartate d'ammoniaque. En vérifiant la solution témoin au moyen du réactif de NESSLER très sensible additionné de soude caustique en excès pour détruire l'acidité, nous n'avons jamais observé le moindre trouble; nous avons donc pu en déduire que les solutions étaient absolument exemptes d'ammoniaque. Bien plus, durant tout le temps consacré au développement des champignons, nous avons conservé de ces flacons témoins et nous avons constaté chaque fois l'absence de l'ammoniaque. L'hydrogène acide du

(1) Par litre : 25 gr. phosphate acide de potassium.

8 gr. sulfate de magnésium.

20 gr. asparagine.

phosphate acide de potassium n'avait non plus exercé une action lente sur l'asparagine.

Après le développement des champignons, nous nous sommes rendu compte, par une analyse microscopique, qu'aucun microbe n'infestait les solutions de culture. Nous avons donc porté les flacons à solution de culture à des températures différentes, 20° et 30°; nous avons pu constater au bout de quelques jours, tout particulièrement pour le *Penicillium violaceum*, que le développement était beaucoup plus rapide à 30° qu'à 20°.

Voulant également nous assurer si ces champignons ne faisaient subir à l'urée aucune modification, nous avons mis en culture, en usant des mêmes procédés de stérilisation et des mêmes précautions que précédemment, le *Penicillium violaceum*, dans une solution préparée suivant la formule *Hayduck*, mais dans laquelle l'asparagine était remplacée par une quantité correspondante d'urée.

Cet essai, sans emploi de substance adjuvante, ne nous a donné aucun résultat satisfaisant; nous avons donc cru nécessaire de joindre à l'urée, un élément où l'hydrogène se trouvât directement fixé au carbone. Notre choix s'est porté naturellement sur l'acide tartrique et le sucre.

Nous avons adopté la formule suivante :

Par litre : 25 gr. phosphate acide de potassium.
8 gr. sulfate de magnésium.
19 gr. 09 urée.
10 gr. acide tartrique.
Solution de sucre au 1/10.

L'acidité de nos flacons avant et après la mise à l'autoclave a été dosée; en tenant compte du liquide évaporé, nous arrivons à une quantité d'acidité sensiblement la même.

Avant la mise à l'autoclave, l'échantillon de 10 cc. dosé au moyen de la soude caustique N/10 avec phénolphtaléine comme indicateur, donne 21,5 cc.

Après la mise à l'autoclave, 10 cc. d'échantillon donne 22,3.

La différence en poids du flacon est de 5 gr. sur 222 gr. 98. Dans la crainte que l'acidité de la solution ne fût trop forte et n'entravât le développement du champignon, nous l'avons mis en culture dans une nouvelle solution. A 640 cc. de solution primitive, nous avons ajouté 5 gr. de CaCO_3 parfaitement pur et 300 cc. de solution sucrée et avons complété le litre par l'addition de 60 cc. d'eau de lavage. L'acidité totale par 10 cc. corres-

pondait à 6 cc. 5 de NaOH N/10 en employant la phénolphtaléine comme indicateur.

Nous avons aussi employé pour mettre en culture une solution exempte d'acide tartrique ainsi préparée :

Par 250 cc. : 6 gr. 22 phosphate acide de potassium.

2 gr. sulfate de magnésium.

25 gr. urée.

25 gr. sucre.

Résultats des expériences.

I.

Au bout de 8 jours, la surface des solutions à asparagine et à urée était complètement couverte par le mycélium du *Penicillium* donnant des spores en grande abondance; vers le cinquième jour, on pouvait déjà constater l'apparition de quelques cristaux appendus au mycélium. Quand les solutions sont laissées au repos, en prenant soin de ne les remuer que le moins souvent possible, on peut obtenir de très beaux et très gros cristaux portant à leur surface de nombreuses trémies; quand, au contraire, on imprime de temps à autre des secousses au ballon, les cristaux restent petits, mais en revanche, on en obtient un très grand nombre.

Le *Penicillium violaceum* dans les solutions à asparagine a atteint, au bout de quinze jours, son maximum de développement; on trouve alors une infinité de cristaux encore attachés au mycélium; et au fond du vase un fort dépôt de cristaux plus ou moins volumineux qui se sont détachés par suite du remous imprimé au liquide.

Dans les solutions d'urée, le *Penicillium* a mis au moins un mois avant d'atteindre son entier développement. La proportion de cristaux formés était beaucoup plus forte dans les solutions renfermant une plus grande quantité d'acide tartrique.

Notons en passant, qu'au moment où le champignon atteint son plein développement, le *Penicillium violaceum*, ainsi que les autres champignons cités précédemment, communiquent aux solutions à asparagine une teinte plus ou moins vert-bleuâtre; aux solutions d'urée, le *Penicillium violaceum* nous a toujours donné une forte coloration brune.

Le *Fusarium Hordei* et l'*Aspergillus niger* mettent au début beaucoup de lenteur à se développer dans la solution de Hayduck; mais une fois que le développement est en bonne voie, leur mycélium couvre très rapidement la surface des solutions nutritives; il s'épaissit considérablement, et donne de nombreux cristaux, qui y restent en grande partie appendus.

Avec le *Fusarium Hordei*, les cristaux se présentent sous la forme de grains de chapelet attachés à des fils qui descendent du mycélium principal et plongent dans le liquide.

L'*Aspergillus B*, le *Fuliginosus*, le *Penicillium glaucum*, de même que le *Penicillium violaceum*, acquièrent bientôt leur complet développement et donnent également de gros cristaux.

Dans un essai de culture dans la solution Hayduck, le *Fusarium* nous avait donné de nombreux et beaux cristaux; mais la solution ayant été abandonnée pendant une couple de mois, ne présenta, au moment de nous en servir pour l'analyse, que deux ou trois très petits cristaux; tous ceux qui s'étaient déposés au fond du vase avaient complètement disparu, repris très probablement par le champignon qui avait envahi tout le flacon.

Le *Botrytis cinerea* a mis beaucoup de mauvais vouloir à pousser et ne nous a donné que deux à trois cristaux en mâcles, complètement différents des précédents; cette quantité minime de cristaux ne nous a pas permis d'en déterminer la nature, bien que nous ayons essayé d'obtenir une culture dans un grand flacon de solution Hayduck; toutes nos tentatives ont été vaines et nous avons dû y renoncer.

Composition des cristaux. Préparation. — Pour retirer les cristaux, on agite très fortement le flacon de façon à dissocier le plus promptement possible le mycélium et à détacher les cristaux qui y adhèrent; en laissant reposer une minute, les cristaux tombent au fond du vase; on verse ensuite le mycélium sur un filtre, on recueille les eaux-mères pour laver les cristaux et les débarrasser, autant que possible, des spores et des fragments de mycélium qui peuvent encore y être attachés; enfin on dépose les cristaux sur un verre de montre avec un peu d'eau, car à l'air au bout d'un certain temps, ils s'effleurissent légèrement. Après les avoir pressés à différentes reprises entre des feuilles de papier Joseph pour les avoir bien secs, nous avons procédé à leur analyse qualitative et quantitative.

Analyse qualitative. Préalablement à toute opération, nous examinons si les différents réactifs à employer : NaOH, HCl, eau distillée, sont

absolument exempts d'ammoniaque; il suffit pour cela de les vérifier au moyen du réactif de NESSLER, très sensible.

On prend alors quelques cristaux que l'on dissout dans un peu d'HCl; en chauffant avec de la NaOH suffisamment en excès, nous obtenons ou non un dégagement d' NH_3 .

La seconde opération consiste dans l'emploi du réactif de NESSLER qui nous donne un fort précipité brun en présence d'ammoniaque; cette opération se fait naturellement à froid et avec un excès de soude caustique.

La troisième opération comporte la reprécipitation du phosphate ammoniaco-magnésien; à cet effet, on dissout quelques cristaux dans l'HCl dilué, qu'on additionne d'un léger excès d' NH_3 : on obtient le précipité de $\text{MgNH}_4\text{P}_2\text{O}_7$ très caractéristique au microscope.

Nous avons également fait l'essai au charbon, flamme oxydante avec $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$, qui nous donne la coloration violette caractéristique du MgHPO_4 .

En résumé, l'analyse qualitative a donné les résultats suivants :

RÉSULTATS DE L'ANALYSE QUALITATIVE.

	Cristaux retirés des solutions Hayduck			
	dissous dans $\text{HCl} + \text{NaOH}$ en excès à chaud	dissous dans $\text{HCl} + \text{NaOH}$ excès à froid + r. NESSLER	dans $\text{HCl} + \text{NH}_3$ en excès	charbon Fl. oxydante + $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$
<i>Penicillium violaceum</i>	Odeur dégag. de NH_3	Abondante précipitation	Reprécip. du $\text{MgNH}_4\text{P}_2\text{O}_7$ caract. au micr.	Color. violette du MgHPO_4
<i>Penicillium glaucum</i>	Idem	Idem	Idem	Idem
<i>Aspergillus fuliginos.</i>	Idem	Idem	Idem	Idem
<i>Aspergillus niger</i>	Idem	Idem	Idem	Idem
<i>Aspergillus B.</i>	Idem	Idem	Idem	Idem
<i>Fusarium hordei</i>	Idem	Idem	Idem	Idem
<i>Botrytis cinerea</i>	Néant	Néant		

NOTA. Le *Botrytis cinerea* n'a pas donné de dégagement de NH_3 au premier essai, ni de précipité au second.

Analyse des cristaux		<i>Penicillium violaceum</i>		
retirés des solutions de :		dans HCl + NaOH en excès, à chaud	dans HCl + NaOH excès, à froid + r. NESSLER	dans HCl + NH ₃ en excès
{ Urée Acide tartrique Sucre		Odeur	Abond précipité	Reprécipitation du
		dégagem. de NH ₃		MgNH ₄ PO ₄
{ Urée Ac. tartrique (quant. moindre Sucre		Idem	Idem	Idem
{ Urée Sucre		Idem	Idem	Idem

Analyse quantitative :

1° Dosage de l'NH₃ contenue dans les cristaux de MgNH₄PO₄6aq.

Premier essai : Nous avons pesé une quantité déterminée de cristaux (1 g. 1574 renfermant 0 g. 080 d'NH₃). Nous l'avons dissoute dans l'HCl, additionné de NaOH en grand excès; nous avons ensuite distillé en recueillant le distillat dans un flacon renfermant un nombre de cc. d'H₂SO₄ N/10 correspondant à la quantité d'NH₃ à recueillir.

La quantité d'NH₃ calculée était 80 mg.

La quantité d'NH₃ trouvée est 78 mg. 2.

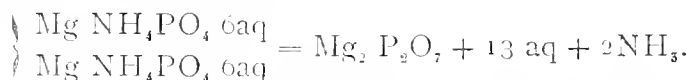
Second essai : Quantité de substance pesée 160 mg.

Quantité d'NH₃ calculée 11 mg. 1.

Quantité d'NH₃ trouvée 10 mg. 7.

2° Dosage d'NH₃ par la perte de poids après calcination.

En appliquant la formule de la réaction :



a) Sur 850 mg. de cristaux pesés, la perte exacte de poids représentant la quantité d'NH₃ et d'eau perdue devait être égale à 464 mg.

La quantité trouvée par la pesée = 467 mg.

On ne parvient que difficilement à se débarrasser complètement de

quelques filaments de mycélium très ténus qui adhèrent trop fortement aux cristaux, ce qui explique la légère différence obtenue.

b) Sur 1 g. 008, la perte calculée est de 551 mg. 3.

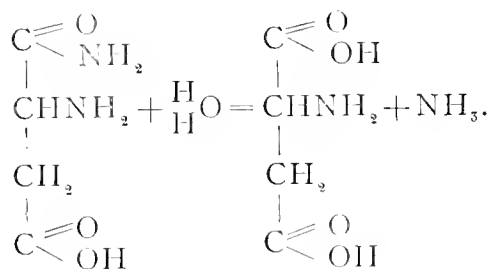
la perte trouvée est de 550 mg. 5.

3° Dosage du magnésium comme pyrophosphate magnésien.

Si nous considérons le résultat précédent, nous devions avoir 456 mg. 8; nous avons trouvé 458,2.

Nous pouvons donc conclure que les cristaux produits dans les solutions d'Hayduck et d'urée sont bien des cristaux de phosphate ammoniacomagnésien, et comme nous nous sommes rendu compte, par une analyse microscopique, qu'aucun microbe n'infestait les solutions de culture, nous pouvons dès à présent tirer cette conclusion : *l'ammoniaque présente dans les solutions et dans les cristaux provient d'une transformation de l'asparagine, qui s'hydrate sous l'influence du champignon.*

On pourrait établir comme équation de la réaction :



II.

Mais la réaction s'arrête-t-elle là? Le radical amine contenu dans l'acide aspartique ne peut-il être attaqué?

Nous avons cherché à répondre à cette question.

L'urée, en nous donnant des cristaux, nous a démontré que le radical amide est toujours attaqué; pour savoir si le radical amine pouvait l'être également et si cet azote amine pouvait donner de l' NH_3 comme l'azote amide, il suffisait de choisir un milieu de culture renfermant un composé aminé.

Nous avons pris l'alanine qui a pour formule $\text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{OH} \end{array} - \text{CHNH}_2 - \text{CH}_3$.

Nous avons donc préparé une solution suivant la formule Hayduck, en remplaçant l'asparagine par une quantité correspondante d'alanine; le

champignon (*Penicillium violaceum*) se développe assez régulièrement, quoi-que moins bien que dans la solution Hayduck. Au bout de neuf jours, nous avons procédé au dosage de l'ammoniaque, qui nous a donné 119 mg. par litre. Au bout de treize jours, un second dosage fournit 306 mg. Nous pouvons donc dire que les composés aminés peuvent tout aussi bien que les composés amidés fournir de l'ammoniaque, sous l'influence hydratante du champignon et que, dans le cas de l'asparagine qui est un composé à la fois amine et amide, l'hydratation a lieu sur les deux radicaux. Ce fait devient encore plus évident en mettant en culture différents champignons dans des solutions Hayduck et en suivant pas à pas leur développement, ainsi qu'en dosant successivement la quantité d'asparagine transformée et la quantité d'ammoniaque produite. Ce sont précisément ces expériences que nous avons exécutées avec le plus grand soin.

CHAPITRE II.

I.

Mécanisme de la fermentation.

L'ammoniaque ainsi produite est-elle le résultat d'une excrétion? Prend-elle naissance lors de la désassimilation des matières albuminoïdes employées à l'édification de la cellule? Ou provient-elle d'une simple hydrolyse de l'asparagine avant son assimilation? Telles sont les questions que nous avons cherché à résoudre dans cette deuxième partie.

Si l'ammoniaque est un produit d'excrétion rejeté par la plante lors de la désassimilation des matières albuminoïdes, nous pouvons aisément nous en assurer en fournissant comme élément nutritif, par exemple, de l'azote nitrique. Nous avons donc mis en culture le *Penicillium violaceum* dans une solution ainsi préparée :

Pour 125 cc. : 3 gr. 1 phosphate acide de potassium.
 1 gr. sulfate de magnésium.
 1 gr. nitrate de potassium.
 25 gr. sucre.

Si nous parvenons à constater la présence d'ammoniaque dans le flacon, c'est à la désassimilation qu'il faut attribuer sa production.

Le champignon s'est très bien développé dans ce milieu de culture et au bout de trois semaines environ, il avait atteint son maximum de végétation; nous avons alors prélevé un échantillon de 10 cc. et nous avons dosé l' NH_3 qui pouvait s'y trouver au moyen du carbonate calcique; mais nous n'avons pu en constater la moindre trace. Il nous était donc permis d'affirmer que l'ammoniaque ne pouvait provenir d'un simple phénomène de désassimilation cellulaire.

Les analyses successives indiquant la proportion d'ammoniaque produite et d'asparagine transformée, ainsi que les opérations de dialyse, viennent à point pour confirmer notre conclusion.

Nous indiquerons d'abord le mode opératoire que nous avons adopté pour l'étude des transformations de l'azote.

I. Dosage de l' NH_3 libre ou combinée.

La plus grande difficulté pour effectuer ces différents dosages résidait dans l'emploi d'un réactif capable de chasser l'ammoniaque sans attaquer l'asparagine. Pour le dosage de l'asparagine, quelle pouvait être la méthode la plus sûre et la plus rapide pour donner exactement la quantité d'azote correspondante à la quantité de cette substance non encore attaquée?

Après un grand nombre d'essais, notre choix s'est définitivement fixé sur le CaCO_3 , qui présente l'avantage de nous livrer toute l'ammoniaque, tout en laissant intacte l'asparagine.

Pour donner une idée de la valeur de cette méthode, il suffira entre tous nos nombreux essais d'en citer un seul.

Une quantité déterminée 100 mmgr. de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ desséché renferme 25 mmgr. 7 de NH_3 .

L'analyse au carbonate de calcium donne 25 mgr. 2.

L'erreur n'est donc que de 2 o/o, en supposant le sulfate ammonique absolument pur.

L'asparagine avec le CaCO_3 ne nous donne rien.

II. Dosage de l'azote amide — CONH_2 .

Quand on distille une quantité connue d'asparagine dissoute, avec de la NaOH concentrée, on trouve dans le distillat sous la forme de NH_3 très exactement la moitié de l'azote renfermé dans l'asparagine, dès qu'on a soin d'éviter la fusion de la soude caustique. Des expériences répétées nous ont donné des résultats très positifs à cet égard.

III. Dosage de l'azote amine — $\text{H}_2\text{C}-\text{NH}_2$.

Au contraire, si on maintient la fusion de la soude caustique pendant un quart d'heure, on obtient l'azote total de l'asparagine. Les expériences faites à ce point de vue ne sont pas moins concluantes; le seul désagrément de cette méthode à la soude caustique en fusion, c'est de ne pouvoir utiliser le ballon que pour une ou deux expériences au plus; mais elle présente des avantages qui ne sont pas à dédaigner : économie de temps, l'opération durant au maximum une heure; et économie d'argent, en comparaison avec la méthode Kjeldahl.

Le radical amine reste stable pendant la première partie de l'opération. Ce qui nous permet de le prétendre, c'est l'essai à l'alanine qui nous donne un résultat complètement négatif, tandis que tout l'azote passe à la fusion. Ce dernier point offrait un intérêt d'autant plus grand pour nous que, pour éviter une casse inutile de ballon, *il suffisait pour doser l'asparagine NON TRANSFORMÉE* dans les solutions de nous contenter de la première opération, *les causes d'erreur provenant de l'acide aspartique* qui aurait pu éventuellement s'y trouver *étant ainsi écartées*.

Voici donc la marche choisie pour les dosages successifs d'ammoniaque et d'asparagine.

Nous prélevons, d'un jour à l'autre, dans des ballons Pasteur renfermant les milieux de culture, un échantillon de 10 cc. que nous traitons par du CaCO_3 dans un ballon Kjeldahl muni d'un réfrigérant, pour chasser l'ammoniaque que nous recueillons dans des flacons renfermant des solutions titrées d'acide sulfurique N/10, avec le méthyl orange comme indicateur; nous filtrons ensuite le résidu de distillation dans un nouveau Kjeldahl et, après lavage soigné à l'eau distillée, nous introduisons quelques morceaux de soude caustique en bâtons et nous distillons en évitant la fusion de la soude. Nous recueillons ainsi la moitié de l'azote de l'asparagine sous la forme d'ammoniaque; il suffit donc de doubler le résultat obtenu pour avoir la quantité exacte d'ammoniaque correspondant à l'asparagine non transformée. L'azote non retrouvé ainsi peut être sous la forme d'acide aspartique ou sous toute autre forme.

Les ballons Kjeldahl conviennent admirablement à ce genre d'opération, attendu qu'on peut franchement les chauffer *à la flamme nue* et que dans ces conditions les distillations se réduisent au minimum de temps : une demi-heure.

Résultats des dosages obtenus avec les différents champignons calculés en grammes d' NH_3 et d'asparagine par litre.

I. Penicillium violaceum.

Le *Penicillium violaceum* a été ensemencé dans une solution Hayduck renfermant 19 gr. 65 d'asparagine par litre pouvant donc donner au maximum 4 gr. 45 d'ammoniaque. Toutes les cultures ont été faites dans des ballons Pasteur à deux tubulures.

1^{er} dosage. — 3 jours après la mise en culture, le champignon étant encore peu développé.

$$\begin{array}{rcl} 0 \text{ gr. } 425 \text{ NH}_3 & 9.5 \text{ o/o} & \\ 15 \text{ gr. } 15 \text{ asparagine} & 75.7 \text{ o/o} & \left. \vphantom{\begin{array}{l} 0 \text{ gr. } 425 \text{ NH}_3 \\ 15 \text{ gr. } 15 \text{ asparagine} \end{array}} \right\} 85,2 \text{ o/o de l'azote total.} \end{array}$$

2^e dosage. — 6 jours après la mise en culture, le champignon commence à prendre un certain développement; assez bien de cristaux formés.

$$\begin{array}{rcl} 1 \text{ gr. } 36 \text{ NH}_3 & 30.4 \text{ o/o} & \\ 10 \text{ gr. } 35 \text{ asparagine} & 51.7 \text{ o/o} & \left. \vphantom{\begin{array}{l} 1 \text{ gr. } 36 \text{ NH}_3 \\ 10 \text{ gr. } 35 \text{ asparagine} \end{array}} \right\} 82,1 \text{ o/o.} \end{array}$$

3^e dosage. — 8^e jour : le champignon couvre la surface du liquide.

$$\begin{array}{rcl} 2 \text{ gr. } 397 \text{ NH}_3 & 53 \text{ o/o} & \\ 2 \text{ gr. } 4 \text{ asparagine} & 12 \text{ o/o} & \left. \vphantom{\begin{array}{l} 2 \text{ gr. } 397 \text{ NH}_3 \\ 2 \text{ gr. } 4 \text{ asparagine} \end{array}} \right\} 65 \text{ o/o.} \end{array}$$

4^e dosage. — 9^e jour : léger dépôt de cristaux au fond du récipient.

$$\begin{array}{rcl} 2 \text{ gr. } 618 \text{ NH}_3 & 58 \text{ o/o} & \\ 1 \text{ gr. } 35 \text{ asparagine} & 5 \text{ o/o} & \left. \vphantom{\begin{array}{l} 2 \text{ gr. } 618 \text{ NH}_3 \\ 1 \text{ gr. } 35 \text{ asparagine} \end{array}} \right\} 63 \text{ o/o.} \end{array}$$

5^e dosage. — 10^e jour : le dépôt s'accroît.

$$\begin{array}{rcl} 2 \text{ gr. } 941 \text{ NH}_3 & 65 \text{ o/o} & \\ 1 \text{ gr. } 65 \text{ asparagine} & 5 \text{ o/o} & \left. \vphantom{\begin{array}{l} 2 \text{ gr. } 941 \text{ NH}_3 \\ 1 \text{ gr. } 65 \text{ asparagine} \end{array}} \right\} 70 \text{ o/o.} \end{array}$$

6^e dosage. — 11^e jour.

$$\begin{array}{rcl} 2 \text{ gr. } 992 \text{ NH}_3 & 66,9 \text{ o/o} & \\ \text{Asparagine} & 0 \text{ o/o} & \left. \vphantom{\begin{array}{l} 2 \text{ gr. } 992 \text{ NH}_3 \\ \text{Asparagine} \end{array}} \right\} 66,9 \text{ o/o.} \end{array}$$

7^e dosage. — 18^e jour.

$$\begin{array}{rcl} 3 \text{ gr. } 870 \text{ NH}_3 & 86 \text{ o/o} & \\ \text{Asparagine} & 0 \text{ o/o} & \left. \vphantom{\begin{array}{l} 3 \text{ gr. } 870 \text{ NH}_3 \\ \text{Asparagine} \end{array}} \right\} 86 \text{ o/o.} \end{array}$$

Nous avons, en usant de précautions infinies, recueilli les cristaux formés; après les avoir séchés, la pesée nous a donné 2 gr. 461, renfermant 0 gr. 340 NH_3 ; si nous ajoutons cette quantité d'ammoniaque à la précédente, nous obtenons 4 gr. 216 (94 o/o). Sur les 4 gr. 450 d'ammoniaque que la solution pouvait donner, nous en trouvons donc 4 gr. 216; il y a donc près de 94 o/o de l'azote de l'asparagine retrouvé sous la forme ammoniacale, ce qui représente évidemment la totalité, en tenant compte des légères causes d'erreur.

Nous avons voulu contrôler la marche des opérations précédentes au moyen d'une nouvelle solution, dans laquelle on avait ensemencé également le *Penicillium violaceum*; la solution renferme 19 gr. 95 d'asparagine pouvant donner 4 gr. 522 d'ammoniaque.

1^{er} dosage. — 2 jours après la mise en culture.

0 gr. 204 NH_3	4	o/o	} 93 o/o de l'azote calculé comme ammoniaque.
17 gr. 85 asparagine	89	o/o	

2^e dosage. — 3^e jour.

0 gr. 323 NH_3	7	o/o	} 92 o/o.
17 gr. 1 asparagine	85	o/o	

3^e dosage. — 4^e jour.

0 gr. 595 NH_3	13	o/o	} 87 o/o.
15 gr. 90 asparagine	74	o/o	

4^e dosage. — 5^e jour : apparition de cristaux.

0 gr. 969 NH_3	21	o/o	} 89 o/o.
13 gr. 725 asparagine	68	o/o	

5^e dosage. — 6^e jour.

1 gr. 258 NH_3	27	o/o	} 92 o/o.
13 gr. 05 asparagine	65	o/o	

6^e dosage. — 8^e jour : la surface du liquide est complètement couverte par le mycélium fortement épaissi; dépôt de cristaux au fond du récipient.

3 gr. 213 NH_3	71	o/o	} 73 o/o.
0 gr. 450 asparagine	2	o/o	

7^e dosage. — 9^e jour.

3 gr. 222 NH_3	71	o/o	} 73 o/o.
0 gr. 450 asparagine	2	o/o	

Ayant dû utiliser le flacon pour des opérations subséquentes, nous avons dû nous contenter de ces résultats. L'ammoniaque renfermée dans les cristaux n'a pas été dosée.

II. *Fusarium hordei*.

Culture avec 19,65 gr. d'asparagine pouvant donner 4 gr. 45 NH_3 .

1^{er} dosage. — 3 jours après la mise en culture.

0 gr. 136 NH_3	3	0/0	}	92	0/0.
17 gr. 85 asparagine	80	00			

2^e dosage. — 4^e jour.

0 gr. 136 NH_3	3	0/0	}	88	0/0.
17 gr. 17 asparagine	85	00			

3^e dosage. — 6^e jour : apparition de cristaux.

0 gr. 323 NH_3	7	0/0	}	86	0/0.
15 gr. 90 asparagine	79	0/0			

4^e dosage. — 7^e jour.

0 gr. 761 NH_3	12	0/0	}	85	0/0.
14 gr. 60 asparagine	73	0/0			

5^e dosage. — 8^e jour.

0 gr. 816 NH_3	18	0/0	}	71	0/0.
13 gr. 68 asparagine	53	0/0			

6^e dosage. — 9^e jour.

0 gr. 969 NH_3	21	0/0	}	86	0/0.
13 gr. 05 asparagine	65	0/0			

7^e dosage. — 10^e jour.

1 gr. 836 NH_3	40,9	0/0	}	71	0/0.
6 gr. 45 asparagine	30,2	0/0			

8^e dosage. — 11^e jour.

1 gr. 972 NH_3	27	0/0	}	71	0/0.
5 gr. 55 asparagine	44	0/0			

9^e dosage. — 14^e jour.

2 gr. 431 NH_3	54	0/0	}	68	0/0.
2 gr. 85 asparagine	14	0/0			

10^e dosage. — 15^e jour.

2 gr. 516 NH ₃	56	0/0	}	65	0/0.
1 gr. 80 asparagine	9	0/0			

11^e dosage. — 16^e jour.

2 gr. 703 NH ₃	60	0/0	}	66	0/0.
1 gr. 35 asparagine	6	0/0			

12^e dosage. — 17^e jour.

2 gr. 907 NH ₃	63	0/0	}	65	0/0.
0 gr. 450 asparagine	2	0/0			

13^e dosage. — 18^e jour.

3 gr. 043 NH ₃	68	0/0	}	68	0/0.
0 gr. 150 asparagine	0.7	0/0			

14^e dosage. — 20^e jour.

3 gr. 23 NH ₃	72	0/0	}	72	0/0.
0 gr. 075 asparagine	0	0/0			

15^e dosage. — 21^e jour.

3 gr. 417 NH ₃	76	0/0	}	76	0/0.
Asparagine	0	0/0			

III. *Aspergillus B.* (indéterminé).

La solution renferme 20 gr. 10 asparagine pouvant donner 4 gr. 556 NH₃.

1^r dosage. — 4 jours après la mise en culture : le champignon est au début de sa végétation.

0 gr. 034 NH ₃	0.6	0/0	}	95	0/0.
18 gr. 90 asparagine	94.5	0/0			

2^e dosage. — 5^e jour.

0 gr. 102 NH ₃	2	0/0	}	94	0/0.
18 gr. 525 asparagine	92	0/0			

3^e dosage. — 6^e jour.

0 gr. 289 NH ₃	6	0/0	}	92	0/0.
17 gr. 30 asparagine	86	0/0			

4^e dosage. — 8^e jour.

0 gr. 422 NH_3	8.3 o/o	} 89 o/o.
16 gr. 20 asparagine	81 o/o	

5^e dosage. — 9^e jour : apparition de quelques gros cristaux.

0 gr. 714 NH_3	15 o/o	} 83 o/o.
13 gr. 758 asparagine	68 o/o	

6^e dosage. — 10^e jour.

2 gr. 580 NH_3	54 o/o	} 64 o/o.
2 gr. 10 asparagine	10 o/o	

7^e dosage. — 11^e jour.

2 gr. 750 NH_3	58 o/o	} 67 o/o.
1 gr. 80 asparagine	9 o/o	

8^e dosage. — 12^e jour.

2 gr. 822 NH_3	59 o/o	} 65 o/o.
1 gr. 35 asparagine	6 o/o	

9^e dosage. — 13^e jour.

2 gr. 975 NH_3	62 o/o	} 67 o/o.
1 gr. 05 asparagine	5 o/o	

10^e dosage. — 16^e jour.

3 gr. 213 NH_3	68 o/o	} 71 o/o.
0 gr. 750 asparagine	3 o/o	

11^e dosage. — 17^e jour.

3 gr. 383 NH_3	71 o/o	} 74 o/o.
0 gr. 600 asparagine	3 o/o	

12^e dosage. — 18^e jour.

3 gr. 621 NH_3	76 o/o	} 77 o/o.
0 gr. 300 asparagine	1.5 o/o	

IV. *Penicillium glaucum*.

Solution Hayduck renfermant 20 gr. 10 asparagine pouvant donner 4 gr. 556 NH_3 . Les 5 premiers jours, le champignon éprouve beaucoup de difficulté à se développer; puis le mycélium, en un seul jour, prend un tel développement, qu'il couvre en grande partie la surface du liquide.

1^{er} dosage. — 6 jours après la mise en culture : apparition de quelques gros cristaux.

0 gr. 344 NH ₃	7	0/0	}	97	0/0.
8 gr. 15 asparagine	90	0/0			

2^e dosage. — 8^e jour.

0 gr. 748 NH ₃	15	0/0	}	94	0/0.
17 gr. 85 asparagine	79	0/0			

3^e dosage. — 9 jours après la mise en culture.

2 gr. 159 NH ₃	45	0/0	}	69	0/0.
4 gr. 950 asparagine	24	0/0			

4^e dosage. — 10^e jour.

2 gr. 822 NH ₃	59	0/0	}	63	0/0.
0 gr. 900 asparagine	4	0/0			

5^e dosage. — 12^e jour.

3 gr. 00 NH ₃	64,8	0/0	}	66	0/0.
0 gr. 450 asparagine	2	0/0			

6^e dosage. — 13^e jour.

3 gr. 147 NH ₃	66	0/0	}	67	0/0.
0 gr. 225 asparagine	1	0/0			

7^e dosage. — 17^e jour.

3 gr. 757 NH ₃	79	0/0	}	79	0/0.
0 gr. 075 asparagine	0	0/0			

V. *Aspergillus niger*.

Solution renfermant 20 gr. 10 asparagine pouvant donner 4 gr. 586 NH₃.

1^{er} dosage. — 7^e jour : quelques plaques de mycélium.

0 gr. 136 NH ₃	2	0/0	}	95	0/0.
18 gr. 60 asparagine	93	0/0			

2^e dosage. — 8^e jour.

0 gr. 170 NH ₃	3	0/0	}	95	0/0.
18 gr. 45 asparagine	92	0/0			

3^e dosage. — 9^e jour.

0 gr. 306 NH ₃	6	o/o	} 93	o/o.
17 gr. 40 asparagine	87	o/o		

4^e dosage. — 10^e jour : apparition de cristaux.

0 gr. 425 NH ₃	9	o/o	} 88	o/o.
15 gr. 93 asparagine	79	o/o		

5^e dosage. — 11^e jour.

0 gr. 680 NH ₃	14	o/o	} 92	o/o.
15 gr. 65 asparagine	78	o/o		

6^e dosage. — 14^e jour.

2 gr. 686 NH ₃	57	o/o	} 68	o/o.
2 gr. 250 asparagine	11	o/o		

7^e dosage. — 15^e jour après la mise en culture.

2 gr. 890 NH ₃	61	o/o	} 65	o/o.
0 gr. 900 asparagine	4	o/o		

8^e dosage. — 16^e jour.

3 gr. 009 NH ₃	63	o/o	} 66	o/o.
0 gr. 600 asparagine	3	o/o		

9^e dosage. — 17^e jour.

3 gr. 145 NH ₃	66	o/o	} 68	o/o.
0 gr. 450 asparagine	2	o/o		

10^e dosage. — 18^e jour.

3 gr. 366 NH ₃	71	o/o	} 72	o/o.
0 gr. 300 asparagine	1	o/o		

Dans les quatre dernières solutions, nous n'avons pas fait le dosage de l'ammoniaque renfermée dans les cristaux. Quand on examine le tableau du pourcentage total, représentant la quantité en o/o d'NH₃ produite, additionnée à la quantité en o/o d'asparagine transformée, nous voyons que ce pourcentage total subit trois phases bien distinctes qui peuvent s'expliquer de la manière suivante :

1^o Le pourcentage total va en diminuant jusqu'à l'apparition des cristaux; une certaine quantité d'azote est utilisée par la plante et une certaine quantité d'asparagine est transformée en acide aspartique; or, cet acide aspartique, dans les conditions où nous opérons, ne pouvait être dosé;

c'est pourquoi nous obtenons nécessairement une diminution dans le pourcentage de l'asparagine; ces deux causes exercent une influence sur le pourcentage total qui, par le fait même, se trouve diminué.

2° A partir de ce moment, le pourcentage total subit quelques variations provenant de ce qu'une certaine quantité d'ammoniaque est utilisée pour la formation des cristaux; mais, à la rigueur, on peut ne pas en tenir compte, parce que cette quantité est minime. La principale cause d'erreur provient toujours de l'asparagine transformée en acide aspartique; cet acide aspartique ne pouvant être dosé occasionne une perte dans le pourcentage.

3° Dès que l'ammoniaque n'est plus fournie que par l'acide aspartique, le pourcentage total se relève peu à peu et en dosant l'ammoniaque renfermée dans les cristaux on peut même réatteindre 94 0/0.

Comme on peut le remarquer, ces différents champignons, *arrivés à un certain degré de développement, transforment tout à coup une notable quantité d'asparagine, donnant ainsi, du jour au lendemain, une quantité double et parfois triple d'ammoniaque.*

L'apparition des cristaux a lieu quand la solution renferme de 400 à 700 mgr. d' NH_3 par litre.

Les expériences qui précèdent nous démontrent donc :

1° Que la quantité d'ammoniaque produite augmente au fur et à mesure de la transformation de l'asparagine et suit même de très près, dans une certaine proportion, cette transformation;

2° Que l'asparagine est attaquée dans ses deux chaînons, amine et amide, pour donner de l'ammoniaque;

3° Que cette transformation présente tous les caractères d'une fermentation.

Nous avons voulu également rechercher si ces champignons exerçaient une action quelconque sur les peptones et dédoublaient ces composés amides complexes. Nous avonsensemencé le *Penicillium violaceum* dans un milieu peptonisé stérile renfermant du sulfate de magnésium et du phosphate acide de potassium. Nous nous sommes assuré par un essai au carbonate calcique de la quantité d'ammoniaque que pouvait renfermer ces peptones; quoique cette quantité soit peu appréciable, nous en avons tenu compte; nous trouvons au dosage pratiqué 13 jours après la mise en culture que la solution renferme 408 mgr. d'ammoniaque par litre, et nous constatons la présence de cristaux bien formés appendus au mycélium.

L'analyse de ces cristaux a établi qu'ils étaient composés par du phosphate ammoniaco-magnésien.

II.

Recherche d'un ferment soluble.

Il nous restait à rechercher si cette transformation de l'asparagine était l'œuvre d'un ferment soluble sécrété par les champignons.

Déjà en 1876, MUSCULUS signala la présence dans les urines d'un ferment soluble sécrété par des Schizophytes, se rapprochant de la diastase, de la ptyaline et du suc gastrique, et capable de transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque en l'absence de ferment figuré. Dans leur communication à l'Institut (1), PASTEUR et JOUBERT laissent supposer qu'ils ont reconnu l'existence de ce ferment, auquel MIQUEL propose d'appliquer le nom d'urase le jour où son existence sera clairement démontrée. Les premiers résultats obtenus par MIQUEL en vue d'isoler le ferment soluble de l'urée et de rendre son existence palpable n'ayant pas répondu à son attente, il laissait entendre dans son Mémoire que la sécrétion du ferment soluble par les Schizophytes était loin d'être démontrée; quelques mois plus tard, grâce à un *modus faciendi* spécial, il parvenait à le mettre en évidence et à en obtenir des quantités considérables.

Nous avons recherché la présence du ferment soluble sécrété par les différentes mucédinées simples étudiées ci-dessus, capable d'opérer le doublement de l'asparagine et de l'urée. Pour l'isoler, les solutions nutritives, au moment où le champignon est en pleine vigueur, sont mises à dialyser. L'appareil à dialyser que nous utilisons consiste en un récipient en verre, dans lequel on fait plonger, soit des boyaux dialyseurs renfermant les solutions nutritives, soit du parchemin maintenu par un cercle en bois, de façon à pouvoir contenir les solutions à dialyser, le tout recouvert d'une cloche en verre.

Pour stériliser, nous avons de prime abord employé une solution de sublimé à 5 o/o; mais, malgré les lavages à l'eau distillée stérile, il restait toujours une trace de chlorure mercurique suffisante pour entraver l'activité de la diastase; du moins avons-nous attribué à cette cause les premiers résultats obtenus, bien différents des résultats subséquents. C'est ce qui nous a déterminé à adopter un autre mode de stérilisation.

On introduit le récipient en verre, ainsi que les boyaux dialyseurs, dans une marmite remplie d'eau que l'on porte lentement à l'ébullition et que

(1) Comptes rendus de l'Académie des Sciences, t. XXX.

l'on maintient à cette température pendant un quart d'heure; on retire l'appareil au moyen de pinces stériles et on recouvre immédiatement le tout de la cloche stérilisée au sublimé à 5 0/00. On introduit dans le récipient en verre un litre d'eau stérilisée par ébullition; on y fait plonger le boyau dialyseur rempli de la solution nutritive et, au bout de 48 heures, le dialysat est prêt à être employé. Chaque fois que nous désirions prélever des échantillons, nous avons eu soin d'asperger tout ce qui se trouvait à proximité de l'appareil, d'une solution à 5 0/00 de sublimé au moyen d'un pulvérisateur. Les pipettes destinées à prélever les échantillons étaient portées à l'étuve à air à 180° et munies d'un tampon de ouate.

Dans le dialysat d'une solution nutritive d'asparagine ayant servi au *Penicillium violaceum*, nous avons prélevé, au moyen d'une pipette stérile, trois échantillons de 10 cc. chacun, que nous avons mis en contact avec 30 cc. d'asparagine N/10 et répartis dans trois tubes stérilisés dans l'eau bouillante. Ces trois tubes munis chacun d'un tampon de ouate stérile sont laissés à 25° pendant 7 heures. Comme il y a toujours une certaine quantité d'ammoniaque qui dialyse, nous avons dû doser cette quantité qui représente le témoin.

Tous les dosages ont été faits au carbonate de chaux précipité.

Témoin	13 mgr. 600 NH_3 .
Après 5 h. de contact	15 mgr. 385.
Après 6 h.	15 mgr. 725.
Après 7 h.	15 mgr. 98.

Nous avons donc après 7 h. de contact à 25°, 2 mgr. 38 NH_3 .

Trois nouveaux échantillons prélevés dans les mêmes conditions que précédemment sont laissés pendant 6 h. au bain-marie, en maintenant la température à 50°.

Témoin	13 mgr. 6 NH_3 .
Après 2 heures	15 mgr. 13.
Après 3 heures	15 mgr. 81.
Après 6 heures	18 mgr. 02.

Après 6 heures, nous avons 4 mgr. 42 d' NH_3 formée, soit 442 mgr. par litre.

Nous avons renouvelé ces expériences en nous servant de solutions nutritives des différents champignons, hormis celles du *Botrytis cinerea* et du *Fusarium*, et en variant les températures.

A 40°	au bout de 3 heures	1 mgr. 02 NH ₃ formée.	
44°	" "	1 mgr. 7	"
50°	" "	2 mgr. 04	"
52°	" "	2 mgr. 38	"
58°	au bout de 4 h. 1/2	5 mgr. 10	"
60°	au bout de 3 heures	1 mgr. 3	"

Des expériences précédentes nous concluons à la présence d'un ferment soluble sécrété par les différents champignons soumis à l'étude et à la propriété qu'a ce ferment de produire le dédoublement de l'asparagine. Il résulterait des différentes expériences que nous avons faites, que la température optimum du ferment aspartique serait voisine de 58°; mais cette donnée n'est qu'approximative, attendu que nous avons dû employer, pour nos expériences, des dialysats provenant de différentes solutions nutritives.

Nous avons également répété les expériences précédentes sur les dialysats de l'urée, ayant servi de nourriture au *Penicillium violaceum*. Nous nous sommes préalablement assuré de l'absence de tout microbe par un examen microscopique et nous avons pris les plus minutieuses précautions pour éviter une infection.

10 cc. de ce dialysat, mis en contact avec 5 cc. d'une solution normale d'urée, donnent au bout de 6 h., à 40°, 3 mgr. 57 NH₃. L'urée se dédouble donc également sous l'influence d'un ferment soluble.

Mais le ferment soluble sécrété par le *Penicillium violaceum* dans l'urée est-il le même que celui qui est sécrété par le même *Penicillium* dans l'asparagine? En un mot, le ferment soluble de l'urée peut-il transformer l'asparagine et réciproquement?

A cet effet, nous avons mis dans deux tubes à essai du dialysat provenant d'une solution nutritive d'urée en contact avec une solution N/10 d'asparagine; et dans deux autres tubes à essai du même dialysat en contact avec une solution normale d'urée.

Les tubes à asparagine n'ont absolument rien donné, tandis que l'urée avait subi une transformation assez notable.

Pour que l'expérience fut tout à fait concluante, nous avons fait l'inverse. Pendant 2 jours, une certaine quantité de dialysat (10 cc. renfermant le ferment aspartique) a été mise en contact avec 10 cc. N/10 urée.

Le dosage de l'ammoniaque ne révèle aucun changement dans l'urée, tandis que l'asparagine accuse une assez forte quantité d'ammoniaque.

Ces résultats répétés nous permettent de tirer une conclusion rigou-

reuse à cet égard : les *ferments solubles aspartique et uréique possèdent une individualité propre.*

Température de destruction du ferment de l'urée.

Pour déterminer la température de destruction du ferment, nous avons suivi la méthode indiquée par BOURQUELOT (1). L'urée contenue dans un des ballons Pasteur ayant servi de nourriture au *Penicillium violaceum* est enlevée et remplacée par de l'eau distillée qu'on maintient 48 heures sous cette culture. On introduit dans chacun des 15 tubes stérilisés 10 cc. de cette eau distillée. On porte les tubes au bain-marie, en réglant la chaleur produite de façon que la température s'élève de 2 degrés par minute. Les tubes sont retirés successivement à partir du moment où le thermomètre marque 40°, le dernier tube est retiré à 70°. Après refroidissement, le dialysat de chaque tube est additionné de 5 cc. d'une solution normale d'urée, on laisse ces solutions en contact pendant 24 heures, puis on procède au dosage de l'ammoniaque dans les différents tubes.

La quantité d'ammoniaque produite est sensiblement la même à 42°, 44°, 46°; à partir de 48°, elle va en augmentant jusque 58°; à 58°, le maximum est atteint et se maintient jusque 60°; à partir de 60°, l'activité du ferment va en s'affaiblissant jusque 68°; à 68°, on ne trouve plus d'ammoniaque produite.

La température de destruction du ferment soluble de l'urée, dans les conditions où ces expériences ont été faites, se trouverait donc entre 66° et 68°.

Température de destruction du ferment aspartique.

En procédant de la même façon que pour le ferment soluble de l'urée, l'analyse nous donne pour le ferment aspartique les résultats suivants :

Les tubes à 42°, 44°, accusent une légère augmentation; à 46° et 48°, l'activité du ferment est sensiblement la même; on peut noter une augmentation progressive dans les tubes suivants, à 50° et 52°. A 52°, le maximum est atteint; l'activité du ferment va alors en s'atténuant jusque 70°; à cette température, nous ne trouvons plus de trace d'ammoniaque.

(1) BOURQUELOT : *Ferments solubles*; p. 137.

Il résulterait de là que la température de destruction du ferment aspartique serait située entre 68° et 70°. Comme on le voit, cette température est voisine de la température de destruction du ferment uréique.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Des différentes expériences auxquelles nous nous sommes livré dans ce travail, nous pouvons déduire les conclusions suivantes :

1° Certaines mucédinées simples, telles que *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, cultivées dans des milieux renfermant des composés organiques à radicaux amidogènes NH_2 , sont capables de produire la fermentation ammoniacale;

2° Le dédoublement de ces composés azotés se fait à l'aide d'un ferment soluble sécrété par ces différents champignons;

3° Ce ferment soluble, dans les deux cas étudiés, possède une individualité propre à chaque composé.

L'ANATOMIE FINE

DE LA

CELLULE NERVEUSE

PAR

A. VAN GEHUCHTEN

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.

(RAPPORT PRÉSENTÉ AU XII^{me} CONGRÈS INTERNATIONAL DE MÉDECINE
TENU A MOSCOU DU 19 AU 26 AOUT 1897.)

L'ANATOMIE FINE DE LA CELLULE NERVEUSE.

INTRODUCTION.

Nos connaissances concernant l'anatomie fine de la cellule nerveuse datent à peine de quelques années. Elles sont dues, en majeure partie, à l'introduction, dans la technique microscopique, de la méthode de coloration au bleu de méthylène connue sous le nom de *méthode de Nissl*.

Vous n'attendez pas de moi que je fasse ici le relevé de tous les travaux antérieurs à cette époque, qui se rapportent à la structure du protoplasme des cellules nerveuses. Qu'il me suffise de vous rappeler que tous les histologistes semblent avoir été pénétrés de l'idée que le protoplasme des cellules nerveuses était organisé d'après un type uniforme, commun à toutes les cellules du névraxe. Il en résultait que les observations faites sur le protoplasme, soit des cellules de la corne antérieure de la moelle, soit des cellules des ganglions spinaux, étaient appliquées directement au protoplasme de toute cellule nerveuse indistinctement.

Les premières données se rapportant à une structure quelque peu complexe du protoplasme des cellules nerveuses semblent dues à REMAK⁽¹⁾ et datent de l'année 1853. Pour ce savant, les cellules des ganglions spinaux de raies sont formées d'une masse fibrillaire (fibrillöse Masse) qui se continue avec des stries analogues dans les parois du cylindre-axe. Pour STILLING⁽²⁾, les fibres nerveuses et les cellules nerveuses étaient composées de fins tubes capillaires.

LEYDIG, BEALE et d'autres auteurs encore parlent d'une fine striation en partie concentrique, en partie dirigée dans le sens des prolongements protoplasmatiques, sans mentionner l'existence de véritables fibrilles. Une structure nettement fibrillaire fut admise encore par FROMMANN. Cet auteur décrit, dans le protoplasme cellulaire, un système complexe de fibrilles par-

(1) REMAK : Monatsberich. d. Berl. Akad., Sitz. v. 12. Mai 1853.

(2) STILLING : *Ueber den Bau der Nervenprimitivfasern und der Nervenzelle*, 1856.

tant du noyau et du nucléole et rayonnant dans tous les sens dans le corps cellulaire. M. SCHULTZE, LEYDIG, KÖLLIKER et d'autres ne purent se convaincre de cette disposition spéciale des fibrilles protoplasmiques. C'est alors que M. SCHULTZE(1), se basant sur des observations faites sur les cellules nerveuses de la corne antérieure du veau examinées à frais dans le sérum sanguin et sur les cellules nerveuses du lobe électrique de la torpille, admet l'existence, dans le protoplasme cellulaire et dans les prolongements qui en dépendent, de fibrilles séparées les unes des autres par une substance fondamentale chargée de séries linéaires de fines granulations. Ces fibrilles nettement visibles dans les prolongements protoplasmiques, s'écartent les unes des autres dès leur entrée dans le corps cellulaire. Dans les cellules de la moelle épinière du veau, elles se perdent bientôt - in dem Gewirr sich durchkreuzender Fäserchen - et dans un protoplasme granuleux entourant le noyau. Il résulte d'une telle structure, dit M. SCHULTZE, que la cellule nerveuse de la corne antérieure représente uniquement - ein Anfangsorgan für den Axencylinder - en ce sens, que les fibrilles qui constituent le prolongement cylindraxile - ihm auf dem Wege der verästelten Fortsätze der Ganglienzelle zugeführt werden, die Fibrillen also, welche man die Ganglienzellensubstanz durchziehen sieht, in der Zelle nicht ihren Ursprung nehmen, sondern in derselben nur eine *Umlagerung* erfahren berufs Formirung des Axencylinderfortsatzes und Ueberleitung in andere verästelte Fortsätze -.

RANVIER(2) admet également la structure fibrillaire des prolongements protoplasmiques et cylindraxiles. Ces fibrilles peuvent se poursuivre jusque dans le corps de la cellule nerveuse, dit-il; mais là, elles ne forment que la couche superficielle, la couche corticale fibrillaire entourant un globe central granuleux.

BOLL(3) a combattu énergiquement la théorie fibrillaire; pour lui, le protoplasme des cellules nerveuses de l'organe électrique de la torpille est dépourvu de fibrilles préexistantes et se présente uniquement comme finement granuleux. FROMMANN, SCHWALBE(4) et plus tard CARNOY(5) admettent une structure réticulée.

(1) M. SCHULTZE : *Allgemeines über die Strukturelemente des Nervensystems*; Stricker's Handbuch, 1871, pp. 129-132.

(2) RANVIER : *Traité technique d'histologie*, 1880, pp. 544-545.

(3) BOLL : *Die Histologie und Histogenese der nervösen Centralorgane*; Berlin, 1872.

(4) SCHWALBE : *Bemerkungen über d. Kern der Ganglienzellen*; Jenaische Zeitsch., Bd. X.

(5) CARNOY : *La Biologie cellulaire*, 1884.

La structure fibrillaire du protoplasme cellulaire, telle qu'elle a été schématisée en quelque sorte par M. SCHULTZE, a compté le plus grand nombre de partisans.

A NISSL revient le mérite incontestable d'avoir montré l'existence, dans un grand nombre de cellules nerveuses, d'éléments particuliers se colorant vivement par le bleu de méthylène et par les couleurs basiques d'aniline. Ces éléments ont été désignés successivement sous le nom de *granules* (NISSL), de *granulations* et *concrétions chromophiles* (BENDA), de *stries chromatiques* (FRIEDMANN), *fuseaux chromophiles* (QUERVAIN), *corpuscules chromatiques*, *portions de la substance colorable du corps cellulaire* (NISSL), *granulations*, *filaments* et *bâtonnets de chromatine* (SCHAEFFER), *granulations* et *corpuscules de Nissl* (HELD), *grumeaux* et *granulations chromatiques* (CAJAL), *corpuscules* et *éléments chromatophiles* (MARINESCO), *blocs* et *éléments chromatiques* (VAN GEHUCHTEN), *corpuscules cellulaires de Nissl* (GOLDSCHIEDER et FLATAU), etc. La substance qui les constitue, et dont la nature intime nous échappe encore, porte généralement le nom de *substance chromatique*. Dans ces derniers temps, v. LENHOSSEK a proposé de la désigner sous le nom de *substance tigroïde*, voulant rappeler par là l'aspect tout particulier, en quelque sorte tigré, que ces blocs chromatiques donnent au protoplasme des cellules motrices.

Ces éléments figurés du corps cellulaire avaient déjà été décrits par FLEMMING (1) en 1882. NISSL (2) les colora pour la première fois dans les cellules pyramidales de l'écorce par le bleu de méthylène en 1885. BENDA (3) les signala, en 1886, dans les cellules nerveuses de la moelle. VIRCHOW (4), ROSIN (5), et KRONTHAL (6), en se servant de méthodes variées, ont observé également, d'une façon indépendante de NISSL, des granulations plus ou moins volumineuses dans le protoplasme d'un grand nombre de cellules

(1) FLEMMING : *Vom Bau der Spinalganglienzellen*; Beiträge zur Anatomie und Embryologie als Festgabe für J. Henle, Bonn, 1882.

(2) NISSL : *Ueber die Untersuchungsmethoden der Grosshirnrinde*; Tagebl. der Naturforscher zu Strasburg, 1885.

(3) BENDA : *Ueber eine neue Färbemethode des Centralnervensystems und Theoretisches über Hamatoxylinfärbungen*; Verhandl. der physiol. Gesellsch. zu Berlin. Sitz. 18. Mai 1886.

BENDA : *Ueber die Bedeutung der durch basische Anilinfarben darstellbaren Nervenzellstructuren*; Neurolog. Centrallbl., 1895, pp. 759-767.

(4) VIRCHOW : *Ueber grosse Granula in Nervenzellen des Kaninchentrückenmarkes*; Centrallbl. d. Nervenheilkunde, 1888, p. 34.

(5) ROSIN : *Ueber eine neue Färbungsmethode des gesammten Nervensystems*; Neurolog. Centrallbl., 1893, pp. 803-809.

(6) KRONTHAL : *Histologisches von den grossen Zellen in den Vorderhornen*; Neurolog. Centr., 1890.

nerveuses. Il est difficile de dire jusqu'à quel point les granulations décrites par ces auteurs correspondent aux éléments figurés mis en relief par la méthode de NISSL. Ce qui nous paraît indiscutable, c'est que c'est NISSL qui nous a fourni une méthode de coloration en quelque sorte spécifique des éléments chromatophiles; c'est lui qui, le premier, en a donné une description complète et qui a appelé l'attention sur leur valeur morphologique et fonctionnelle.

Par sa méthode au bleu de méthylène, NISSL a démontré que le protoplasme des cellules nerveuses n'avait pas une organisation uniforme. En colorant des coupes du névraxe par le bleu de méthylène, il a mis en lumière ce fait important, c'est qu'au point de vue de leur organisation interne il faut diviser les cellules nerveuses en deux groupes nettement distincts par la façon dont leur protoplasme se comporte vis-à-vis du bleu de méthylène. Les unes se colorent à la fois dans leur noyau et dans leur protoplasme : ce sont les *cellules somatochromes* de NISSL. Les autres ne fixent le bleu de méthylène que dans leur noyau : ce sont les *cellules caryochromes* de NISSL.

La structure interne des cellules caryochromes n'a guère encore été étudiée. Je me permettrai donc de les passer sous silence pour m'occuper exclusivement de l'anatomie fine des cellules somatochromes.

Le protoplasme des cellules somatochromes est formé essentiellement de deux parties : une *partie chromatique* ou chromophile se colorant vivement par le bleu de méthylène (NISSL), la thionine (v. LENHOSSEK) ou le bleu de toluidine (MANN) et une *partie achromatique* vis-à-vis des couleurs d'aniline. Ces deux parties présentent partout la même organisation interne, ainsi que nous le montrerons dans le courant de ce travail, mais la façon dont elles sont réparties dans le corps cellulaire donne à celui-ci un aspect caractéristique; NISSL s'en est servi pour essayer d'introduire une certaine classification dans le groupe important des cellules somatochromes.

Il m'est impossible d'insister ici sur les caractères différentiels de ces multiples types cellulaires, d'autant plus que cet essai de classification fait par NISSL n'est que provisoire. Il repose tout entier sur des caractères morphologiques dont, dans l'état actuel de la science, il nous est encore impossible d'apprécier la valeur réelle.

Le groupe des cellules somatochromes de NISSL correspond à un grand nombre de types cellulaires assez bien distincts au point de vue morphologique. Je me permettrai de limiter mon rapport à l'anatomie fine des deux types cellulaires les mieux connus et les plus étudiés jusqu'à présent : les

cellules motrices de la partie inférieure du névraxe et les cellules des ganglions cérébro-spinaux.

Pour chacun de ces deux types cellulaires, je me propose d'étudier avec vous :

- 1° L'organisation interne du protoplasme et du noyau.
- 2° Les modifications qu'y déterminent les différents états fonctionnels.
- 3° Les modifications consécutives aux lésions pathologiques et expérimentales des fibres nerveuses qui en dépendent.
- 4° Les modifications consécutives aux troubles circulatoires et aux intoxications.

CHAPITRE I.

Organisation interne des cellules nerveuses.

A. Cellules motrices.

Le protoplasme des cellules motrices, coloré par le bleu de méthylène, se trouve donc constitué d'une partie chromatique et d'une partie achromatique. Ces deux parties diffèrent l'une de l'autre non seulement par la façon dont elles se comportent vis-à-vis des matières colorantes, mais encore par leur organisation interne et par leur valeur fonctionnelle.

La substance chromatique se présente généralement, dans les cellules motrices, sous forme de blocs irréguliers, plus ou moins volumineux, répartis sans ordre apparent dans toute l'étendue du corps de la cellule nerveuse. Ces blocs envahissent également les gros troncs protoplasmiques; dans ceux-ci ils se présentent sous forme de bâtonnets allongés, fusiformes, placés parallèlement à la direction du prolongement lui-même. Au point de bifurcation du tronc protoplasmique, on trouve, d'une façon constante, un cône triangulaire de substance chromatique; c'est le cône de remplissage (*Ausfüllungskegel*) de BENDA, le *cône de bifurcation* de NISSL.

Les auteurs admettent généralement, avec SIMARRO et SCHAFER, que la substance chromatique manque totalement dans le prolongement cylindraxile et dans la partie du corps cellulaire immédiatement voisine du point d'origine de l'axone. Ce fait peut s'observer, avec la plus grande facilité, dans les cellules des ganglions cérébro-spinaux, ainsi que nous le verrons plus loin; il nous semble cependant difficile à établir, comme règle absolue, pour les cellules motrices du névraxe. Nous avons étudié des centaines de coupes des diverses parties du névraxe colorées à la fois par le bleu de méthylène, qui met en relief la substance chromatique, et par l'érythrosine, qui colore intensément la substance achromatique, et ce n'est que dans de rares cas que nous avons pu établir, avec quelque certitude, lequel des prolongements de la cellule nerveuse devait être considéré comme le prolongement cylindraxile.

Les éléments chromatiques, qu'ils se présentent sous forme de blocs irréguliers et plus ou moins volumineux, ou sous forme de bâtonnets plus

ou moins allongés, ont d'abord été considérés comme des masses homogènes. DE QUERVAIN(1), le premier, leur décrit des contours irréguliers et les considère comme des agglomérations de granulations plus fines. Quand les préparations sont un peu trop décolorées, dit-il, - so sieht man in ihrem Innern blaue Punkte und grössere unregelmässige blaue Flecke, zwischen denen kleinere oder grössere Lücken liegen. Die feinen Enden dieser Spindeln scheinen häufig auch aus feinsten Körnchen zu bestehen und hängen oft mit den Enden benachbarter Spindeln zusammen. - NISSL(2) a appelé aussi l'attention sur leurs contours irréguliers et sur les fins prolongements filiformes qui en partent pour se perdre dans la substance achromatique. De plus, il a signalé, au centre des éléments chromatophiles, l'existence de petites places incolores, taillées comme à l'emporte-pièce au sein de la masse colorée, qu'il considère comme des vacuoles. On voit, dit-il, - in ihrem Innern nicht selten eine oder mehrere scharf umrandete, gewissermaassen mit einem Locheisen geschlagene kleine ungefärbte Stellen die ich wegen ihres Aussehens Körperchenvacuolen genannt habe -.

BENDA(3) et JULIUSBURGER(4) les décrivent comme formés d'une substance fondamentale homogène et incolore chargée de granulations excessivement fines.

V. LENHOSSEK(5) fait ressortir également les contours irréguliers des éléments chromatophiles; ils ne sont pas homogènes, dit-il, mais on y observe un mélange de tâches claires et obscures et on a l'impression que ces blocs chromatiques ne sont rien d'autres que des agglomérations d'éléments plus petits. - Betrachtet man mit Hilfe stärkerer Linse die Konturen der einzelnen Schollen, so ergibt sich, dass sie selten von ganz scharfen Linien begrenzt sind, vielmehr in der Regel unregelmässige, oft zackige Grenzen aufweisen, vielfach auch an ihren Rändern wie in kleine Granula aufgelöst erscheinen. Auch im Innern lassen sie eine vollkommene Homogenität vermissen, helle und dunkle Stellen wechseln in ihnen ab, Vakuolen sind ab und zu sichtbar, und man bekommt oft den Eindruck, als hätte man es in

(1) DE QUERVAIN : *Ueber die Veränderungen des Centralnervensystems bei experimentellen Cachexia thyreopriva der Thiere*; Virchow's Archiv, 141, 1883-1886, p. 527.

(2) NISSL : *Ueber Rosin's neue Färbemethode des gesammten Nervensystems und dessen Bemerkungen über Ganglienzellen*; Neurol. Centrallbl., 1891, p. 101.

(3) BENDA : *Ueber die Bedeutung der durch fastische Anilinfarben darstellbaren Nervenzellstrukturen*; Neurol. Centr., 1893.

(4) JULIUSBURGER : *Bemerkungen zur Pathologie der Ganglienzelle*; Neurol. Centr., 1896.

(5) V. LENHOSSEK : *Der feinere Bau des Nervensystems*; Berlin, 1895, pp. 155 et 156.

den Schollen mit nichts anderem als mit Konglomeraten von kleineren Bildungen zu thun -.

D'après des recherches plus récentes (1), il admet encore que les éléments chromatophiles sont formés de granulations sphériques excessivement fines et de grosseur variable. Mais à côté de ces microsomes fortement chromatophiles, les éléments chromatiques renferment encore un second élément constituant - eine blass gefärbte, in ihrem inneren Gefüge schwer definirbare Zwischensubstanz, die die Tigroidkörner als Grundmasse zusammenhält -.

Pour FLEMMING (2), les éléments chromatophiles sont des agglomérations de granulations plus fines. BECKER (3) les croit formés de granulations nombreuses incorporées dans une substance intermédiaire plus fluide.

CAJAL (4) a insisté également sur les contours irréguliers des blocs chromatiques signalés par NISSL et v. LENHOSSEK, ainsi que sur l'existence dans leur intérieur de taches claires. Mais, pour le savant espagnol, les taches claires ne sont pas des vacuoles creusées dans l'épaisseur du bloc chromatique et les prolongements filiformes qui relient les éléments chromatophiles à la substance achromatique ne forment pas partie intégrante de la substance qui se colore. Les éléments chromatophiles sont, d'après CAJAL, formés de deux parties : une *partie incolore*, d'une structure soit réticulée, soit spongieuse, qui n'appartient pas en propre aux blocs chromatiques, mais qui représente une partie du spongioplasme qui occupe toute l'étendue de la cellule nerveuse; et une *partie colorable*, sensible au bleu de méthylène, qui ne se présente pas sous une forme nettement figurée, mais qui imprègne les trabécules du réseau ou les parois des mailles du spongioplasme et les couvre d'une couche continue de substance chromatique, dont l'épaisseur varie d'une trabécule à l'autre. C'est cette incrustation irrégulière des trabécules du spongioplasme qui fait disparaître plus ou moins la disposition alvéolaire primitive. Si cette incrustation est très abondante, un grand nombre d'alvéoles du spongioplasme peuvent être occupées entièrement par la substance chromatique; on se trouvera alors en présence de blocs plus

(1) V. LENHOSSEK : *Ueber Nervenzellenstructuren*; Verhandl. der Anatom. Gesellsch., Berlin, 1896, p. 16.

(2) FLEMMING : *Ueber die Structur der Nervenganglienzellen*; Verhandl. der Anatom. Gesellsch., 1895. — *Ueber den Bau der Spinalganglienzellen bei Säugethieren*; Arch. f. mikr. Anat., 1895, p. 384.

(3) BECKER : XX. Wanderversammlung der sudwestd. Neurol. u. Irrenärzte in Baden; Archiv f. Psychiatrie, Bd. XXVII, 1895, p. 953.

(4) CAJAL : *Estructura del protoplasma nervioso*; Revista trimestral Micrográfica, 1896.

ou moins homogènes. Si l'incrustation des parois alvéolaires est moins prononcée, les blocs chromatiques présenteront un nombre plus ou moins grand de taches claires, qui ne sont rien d'autre que les alvéoles primitives du spongioplasme incomplètement oblitérées.

HELD (1) admet que les corpuscules de NISSL ont une structure complexe. Ils seraient formés de granulations chromatiques englobées dans une masse fondamentale ayant l'aspect d'un coagulum (gerinnselfartige Masse), nettement distincte de la masse fondamentale du protoplasme cellulaire, et de vacuoles. D'après HELD, les corpuscules de NISSL, de même que les granulations qui les constituent, ne préexisteraient pas comme tels dans la cellule vivante. La substance qui les constitue existerait dissoute dans le protoplasme cellulaire et serait précipitée sous une forme granuleuse par les réactifs durcissants. DOGIEL (2) partage la même manière de voir. Nous nous sommes élevé (3) avec v. LENHOSSEK (4) contre une telle interprétation.

LUGARO (5) considère la substance chromatique comme une substance secondaire qui s'est déposée entre les fibrilles des prolongements protoplasmiques et aux endroits du corps cellulaire non occupés par le réticulum protoplasmique. Pour LUGARO, l'image obtenue par la méthode de NISSL n'est que l'épreuve négative de la configuration structurale du protoplasme cellulaire.

Dans les blocs chromatiques eux-mêmes, il ne lui paraît pas possible de faire une distinction nette entre une partie fondamentale homogène et des grains qui y seraient inclus. Pour LUGARO, la substance chromatique est constituée d'un mélange de parties plus ou moins confluentes, de colorabilité diverse et disposées en forme d'éponge.

MARINESCO (6) considère les blocs chromatiques, ou mieux éléments chromatophiles, comme il les appelle, comme constitués par des granulations élémentaires réunies entre elles par une substance amorphe.

(1) HELD : *Beiträge zur Structur der Nervenellen und ihrer Fortsätze*; Archiv f. Anat. und Phys., Anat. Abth., 1895.

(2) DOGIEL : *Zur Frage über den feineren Bau des sympathischen Nervensystems bei den Säugethieren*; Archiv f. micr. Anat., Bd. 46, 1895.

(3) VAN GEHUCHTEN : *Anatomie du système nerveux de l'homme*; 2^e éd., 1897, p. 242.

(4) v. LENHOSSEK : *Ueber Nervenellenstructuren*; loc. cit.

(5) LUGARO : *Sul valore rispettivo della parte cromatica e della acromatica nel citoplasma delle cellule nervose*; Rivista di patologia nervosa e mentale, 1896. — LUGARO : *Nuovi dati e nuovi problemi della patologia della cellula nervosa*; Ibid., 1896, p. 311.

(6) MARINESCO : *Pathologie générale de la cellule nerveuse*; La Presse médicale, 27 janvier 1897.

Les recherches que nous avons faites nous-même sur la structure des éléments chromatophiles nous font partager la manière de voir de CAJAL. Avant d'exposer le résultat de ces recherches, nous croyons utile de résumer l'état actuel de la science sur la structure de la substance achromatique.

La substance achromatique a été considérée, par quelques auteurs, comme une substance amorphe.

En 1882, FLEMMING y a signalé l'existence de fins filaments à trajet irrégulier et flexueux. ROSIN (1) admet une fine striation dans la substance fondamentale des cellules nerveuses : - Zwei Substanzen setzen das Protoplasma der Ganglienzellen zusammen, conclut-il; eine grobkörnige basophile, und eine feinfaserige acidophile Substanz, welche letztere bei NISSL farblos bleibt. -

NISSL (2) distingue trois substances dans le corps cellulaire : une substance se colorant fortement par le bleu de méthylène; c'est elle qui constitue les - tiefgefärbten Körper - de NISSL, généralement connus sous le nom d'éléments chromatophiles. A côté de ces éléments chromatiques, NISSL admet encore l'existence d'une deuxième substance se colorant faiblement par le bleu de méthylène et d'une troisième substance complètement incolore. Dans la substance incolore interposée entre les blocs chromatiques, on trouve, dit-il, - eine sich blass färbende Substanz die in Form von feinsten Körnchen, von feinsten Körnchenfäden wohl auch in allerfeinsten glatten Fäden auftritt. - En général on peut dire, continue-t-il, - dass diese schwach gefärbte Substanz ebenso wie die tief gefärbten Körper in der ungefärbten Substanz eingebettet liegen und dass auch die Körner und Fäden der blass gefärbten Substanz in der Richtung der Längsaxe der Körper angeordnet sind, vielfach auch sich den Langspolen der Körper besonders aber der Spindeln anlegen, so dass beide oder nur eine Spitze der Spindeln häufig in einen blass gefärbten Faden oder in eine Körnerreihe auszulaufen pflegen -.

V. LENHOSSEK (3) admet, pour la substance achromatique, une structure excessivement délicate dont il n'est pas parvenu à se faire une idée précise : - hellere ungefärbte Pünktchen, dit-il, tauchen in dicht gedrängter Lagerung auf und verleihen dem Protoplasma ein schaum- oder wabenartiges

(1) ROSIN : *Ueber eine neue Färbungsmethode des gesammten Nerrensystms nebst Bemerkungen über Ganglienzellen und Gliazelle*; Neurolog. Centralbl., 1893, p. 808.

(2) NISSL : *Ueber Rosin's neue Färbemethode...*; Neurol. Centr., 1894, p. 101 et 102.

(3) V. LENHOSSEK : *Der feinere Bau des Nerrensystms*; Berlin, 1896, p. 159.

Aussehen. « Il ignore quelle signification il doit donner à ces granulations excessivement fines et il se demande si l'on a devant soi : « ob ein netzförmiger oder ein aus zarten Fädchen bestehender Bau ». De l'ensemble de ses observations il croit cependant être en droit de tirer les deux conclusions suivantes : 1° c'est que si les points clairs qu'il a vus sont des fibrilles, celles-ci doivent être très courtes; 2° c'est que si ces fibrilles existent, elles sont indépendantes des éléments chromatophiles.

La masse fondamentale du protoplasme, dit HELD (1), présente manifestement les apparences d'une structure réticulée (macht entschieden einen netzartigen Eindruck). On y distingue des granulations excessivement fines laissant entre elles des lacunes plus ou moins grandes; nulle part on n'y distingue de véritables fibrilles. Au niveau du cône d'origine de l'axone, les granulations se juxtaposent en séries linéaires, se rapprochent les unes des autres pour se transformer en fibrilles. Cette structure fibrillaire est nettement visible dans les prolongements protoplasmiques et cylindraxiles.

LUGARO admet que la partie achromatique du protoplasme de la cellule nerveuse représente la masse filaire de FLEMMING; elle présente une structure fibrillaire dans les prolongements protoplasmiques, dit-il, (2) et réticulée dans le corps cellulaire. En colorant par l'hématoxyline la substance achromatique de certaines cellules nerveuses en état de chromatolyse, il lui a reconnu une structure nettement fibrillaire. Ces fibrilles sont, sans aucun doute, dit-il, anastomosées entre elles de manière à produire un réticulum fibrillaire.

BECKER est parvenu à colorer d'une façon spéciale la partie du corps cellulaire qui reste incolore avec la méthode de NISSL. Il affirme que la partie achromatique du protoplasme cellulaire est la continuation directe dans le corps cellulaire, des fibrilles du prolongement cylindraxile et des prolongements protoplasmiques. NISSL s'est rallié à cette manière de voir.

FLEMMING (3) affirme que, dans la substance achromatique des prolongements protoplasmiques et de la partie du corps cellulaire immédiatement voisine, on voit nettement, entre les blocs chromatiques « eine sehr feine, ziemlich parallele Streifung ».

(1) HELD : Loc. cit.

(2) LUGARO : *Sulle valore rispettivo della parte cromatica...*; *Revista di patologia nervosa e mentale*, 1896, p. 12. — *Sulle alterazioni degli elementi nervosi negli avvelenamenti per arsenico e per piombo*; *Ibid.*, 2 février 1897.

(3) FLEMMING : *Ueber den Bau der Spinalganglienzellen*; *Arch. f. mikr. Anat.*, 1895, p. 392.

Il est possible, dit-il, que cette structure fibrillaire existe aussi au milieu du corps cellulaire, mais je ne puis l'affirmer en toute certitude, parce que sur des coupes fines, il est impossible de poursuivre ces fibrilles sur une certaine longueur.

Sur des coupes qui passent par le milieu du corps cellulaire, dit-il ailleurs (1), on ne voit pas cette structure fibrillaire. Aux endroits dépourvus de blocs chromatiques - sieht man nicht punktartige Quer und Schrägschnitte, sondern den Ausdruck von Durchschnitten eines verästelten Faserwerks. Es macht also den Eindruck, als ob die parallelen Fibrillenzüge, zu denen die Zellsubstanz in den Fortsätzen geformt ist, im Mittelleib der Zelle diesen Parallelismus aufgeben und sich in ein dreidimensional vertheiltes Fadenwerk umsetzen. -

V. LENHOSSEK (2) a signalé également l'existence de fibrilles dans le protoplasme des cellules motrices de la moelle épinière de la grenouille et dans les cellules de PURKINJE du chien et du cobaye. Mais quand on examine ces fibrilles avec de forts grossissements, dit-il, on voit qu'il ne s'agit pas du tout de véritables filaments, „sondern um eine undeutlich begrenzte, verschwommene Masse, die sich streifenförmig an die Spitzen der Tigroidschollen anschliesst. “

„Nicht eine directe Differenzirung der Grundmasse des Protoplasmas liegt hier vor, dit VON LENHOSSEK, sondern die streifenförmige Einlagerung einer besonderen, wie er scheint feingranulären Substanz in die körnigwabig gebaute Grundsubstanz des Zellkörpers. “

CAJAL (3) admet pour la substance achromatique une structure nettement réticulée. Les trabécules de ce réseau sont pâles, membraniformes, courtes et droites; elles limitent des mailles polygonales. A chaque nœud de ce réseau on trouve une petite granulation colorable. Ces trabécules achromatiques relient l'un à l'autre les blocs chromatiques, soit directement, quand les blocs sont très rapprochés, soit au moyen de deux ou trois séries de mailles interposées. A la base des prolongements protoplasmiques, les filaments pâles s'amincissent, les mailles qu'ils délimitent se rétrécissent,

(1) FLEMMING : *Ueber die Struktur centraler Nervenzellen der Wirbelthiere*; Anatomische Hefte, 1896, p. 566.

(2) V. LENHOSSEK : *Ueber Nervenzellenstructuren*; Verhandl. der Anatomischen Gesellschaft zu Berlin, 1896, p. 17.

(3) CAJAL : *Estructura del protoplasma nervioso*; Rivista trimestral micrografica, 1896, p. 7 et 8.

les grains chromophiles des points d'entrecroisement disparaissent et insensiblement il se forme une trame incolore, très serrée, que les meilleurs objectifs ne permettent pas de débrouiller d'une façon satisfaisante. La même chose se passe du côté du cylindre-axe : les grumeaux et les grains chromatiques disparaissant rapidement, les filaments du spongioplasme se condensent en un réseau très serré et pâle, continu avec la trame fibrillaire du prolongement cylindraxile. L'apparence fibrillaire décrite par les auteurs dans le corps cellulaire résulte peut-être, dit CAJAL, de la perception confuse des trabécules longitudinales du réticulum ainsi que des bâtonnets chromatiques élargis. Il ne nie pas d'une manière absolue l'existence des fibrilles achromatiques indépendantes décrites par FLEMMING et DOGIEL. Ces fibrilles pourraient exister, dit-il, entre les grumeaux chromatiques; mais la méthode de NISSL ne permet pas d'en étudier ni la disposition ni les connexions.

Dans la deuxième édition de notre „ Anatomie du système nerveux “ nous avons confirmé (1) la manière de voir de CAJAL. Dans quelques-unes des cellules d'origine du nerf oculo-moteur commun du lapin, nous avons pu constater, en toute évidence nous semble-t-il, la structure réticulée de la partie achromatique.

MARINESCO (2) avait d'abord admis, pour la substance achromatique, une structure fibrillaire, d'accord en cela avec BECKER. Dans un travail ultérieur (3), il admet que la substance achromatique est „ une substance d'aspect fibrillaire ou strié dans les prolongements protoplasmiques et dans le cylindre-axe, semblant former un réseau intra-cellulaire “. Dans son dernier travail (4), il se base principalement sur la structure de la substance achromatique dans les cellules nerveuses en état de chromatolyse expérimentale pour admettre, avec nous, que la partie achromatique est formée de deux éléments : un élément achromatique figuré et un élément achromatique amorphe ou substance fondamentale. Cette substance achromatique

(1) VAN GEUCHTEN : *Anatomie du système nerveux de l'homme*; 2^e édition, Louvain, 1897, pp. 242 et 243.

(2) MARINESCO : *Des polyneurites en rapport avec les lésions secondaires et les lésions primitives des cellules nerveuses*; *Revue neurologique*, 1895, pp. 129-141.

(3) MARINESCO : *Pathologie générale de la cellule nerveuse*; *La Presse médicale*, 27 janvier 1897.

(4) MARINESCO : *Nouvelles recherches sur la structure fine de la cellule nerveuse*; *La Presse médicale*, 16 juin 1897.

figurée présente une structure fibrillaire dans les prolongements protoplasmiques et cylindraxiles; dans le corps cellulaire „ elle est constituée par un réseau qui donne au corps de la cellule l'apparence d'une masse spongieuse, le spongioplasme “.

La structure réticulée de la partie achromatique du protoplasme des cellules nerveuses est encore la conclusion à laquelle nous ont conduit toutes les recherches que nous avons entreprises, dans ces derniers temps, sur l'anatomie fine de la cellule nerveuse.

Quand on examine au microscope, avec un objectif à immersion homogène, un grand nombre de cellules motrices dans les diverses régions du névraxe, on est sûr de rencontrer le type moteur de NISSL au moins sous trois aspects différents. Le plus grand nombre des cellules motrices sont très riches en substance chromatique; celle-ci se présente sous forme de blocs homogènes ou de blocs granuleux plus ou moins volumineux, répartis dans toute l'étendue du protoplasme cellulaire; la partie achromatique, réduite à de minces traînées séparant les éléments chromatiques, paraît homogène et sans structure. D'autres cellules cependant sont moins riches en substance chromatique; les éléments chromatophiles s'y concentrent plus ou moins dans la partie du protoplasme qui avoisine le noyau en laissant libre presque toute la zone périphérique. Ces cellules se prêtent mieux à l'étude de la partie achromatique. Dans quelques-unes d'entre elles on voit nettement que la partie achromatique du protoplasme cellulaire est formée d'un nombre considérable de fines granulations colorées par le bleu de méthylène, placées presque à égale distance l'une de l'autre et qui peuvent se poursuivre très loin dans les prolongements protoplasmiques. Ces granulations ont été observées par un grand nombre d'auteurs et notamment par NISSL qui les décrivait comme représentant une „ schwach gefärbte Substanz “ et par v. LENHOSSEK.

Dans d'autres cellules nerveuses, ces granulations sont plus pâles, le bleu de méthylène leur a donné à peine une légère teinte bleuâtre, mais toutes ces granulations sont reliées les unes aux autres par de fins filaments délimitant ainsi des mailles plus ou moins régulières de manière à constituer un véritable réseau.

Ce réseau protoplasmique nous paraît exister dans toute l'étendue du corps de la cellule nerveuse; il existe aussi dans les prolongements, mais ici les mailles semblent présenter une disposition plus régulière; il s'ensuit que les points nodaux, superposés en séries plus ou moins régulières, donnent à ces prolongements un aspect fibrillaire.

Les mailles de ce réseau sont occupées par une substance amorphe.

La partie achromatique du protoplasme des cellules nerveuses n'est donc pas formée exclusivement de fibrilles comme le pensent BENDA, NISSL, BECKER, DOGIEL et LUGARO; elle a une structure beaucoup plus complexe. Elle représente à nos yeux le véritable protoplasme de la cellule nerveuse. Ce qui le prouve, c'est qu'elle forme à elle seule le corps cellulaire de toutes les cellules nerveuses dépourvues de substance chromatique que NISSL a réunies sous le nom de cellules caryochromes. Comme tout protoplasme cellulaire, la partie achromatique de la cellule nerveuse est formée par une partie organisée, la *masse filaire* de FLEMMING, le *réticulum plastinien* de CARNOY, et une partie non organisée, la *masse interfilaire* de FLEMMING, l'enchylème de CARNOY.

Ces deux parties entrent également dans la constitution des prolongements protoplasmiques et du prolongement cylindraxile; la partie organisée y prend une disposition plus régulière donnant naissance à des fibrilles granuleuses dans les prolongements dendritiques, à des fibrilles plus régulières et plus nettement distinctes dans toute l'étendue de l'axone.

C'est dans ce protoplasme cellulaire ainsi constitué que vient se déposer la substance chromatique. Ce dépôt se fait, d'après nous, sur la partie organisée, c'est-à-dire sur le réticulum. Cette substance chimique spéciale, sensible aux couleurs basiques d'aniline, imprègne d'abord les points nodaux du réseau. A ce stade, la partie achromatique du protoplasme cellulaire, colorée par le bleu de méthylène, présente une structure finement granuleuse. A certains endroits, quelques granulations superposées s'épaississent considérablement et peuvent même finir par se fusionner complètement; elles donnent ainsi naissance à des bâtonnets chromatiques granuleux ou homogènes de longueur et d'épaisseur variables.

A d'autres endroits, la substance chromatique imprègne aussi les trabécules qui partent des points nodaux: les granulations devenues un peu plus épaisses présentent un aspect étoilé et semblent donner naissance à ces petits prolongements chromatiques, signalés d'abord par DE QUERVAIN et par NISSL, qui se perdent dans la substance achromatique. D'autres fois la substance chromatique imprègne les trabécules qui relient les points nodaux; l'on observe alors, dans le protoplasme cellulaire, des filaments chromatiques à trajet irrégulier, plus ou moins longs, d'où partent de chaque côté de petits prolongements se perdant dans la partie achromatique voisine. Cette incrustation des points nodaux et des trabécules voisines par la

substance chromatique peut aller plus loin encore; on comprend facilement qu'au fur et à mesure que les trabécules s'épaississent, les mailles doivent se rétrécir.

Si l'incrustation par la substance chromatique se fait sur un grand nombre de trabécules et de points nodaux voisins, toutes ces parties épaissies finiront par se rapprocher plus ou moins et par donner naissance à un bloc chromatique. Celui-ci ne sera pas homogène, puisque les mailles du réticulum, considérablement réduites, ne sont pas occupées entièrement par la substance chromatique : ces mailles claires au sein du bloc chromatique représentent les vacuoles décrites par DE QUERVAIN, NISSL et v. LENHOSSEK. Le bloc chromatique n'aura pas non plus des contours réguliers, parce que de tout son pourtour on verra partir de petites trabécules légèrement imprégnées par la substance chromatique et qui vont se perdre dans les trainées achromatiques voisines. Si cette incrustation par la substance chromatique devient plus abondante encore, les points nodaux et les trabécules arriveront en contact et produiront un élément chromatophile teinté uniformément par le bleu de méthylène et en apparence homogène.

Cette façon de comprendre la structure du protoplasme des cellules nerveuses, à laquelle nous ont conduit nos recherches personnelles, cadre complètement avec la manière de voir de CAJAL que nous avons exposée plus haut. Elle se rapproche aussi beaucoup des idées de FLEMMING. Celui-ci admet, il est vrai, une structure fibrillaire pour la partie achromatique, mais ces fibrilles ne sont nettement visibles, dit-il, que dans les prolongements protoplasmiques et cylindraxiles, tandis que dans le corps cellulaire ces fibrilles semblent se transformer - in ein dreidimensional verteiltes Fadenwerk - (1). Les fibrilles du corps protoplasmique, dit-il encore (2), sont en connexion le plus souvent, si pas toujours, avec les amas de granulations chromatiques et on a l'impression „als ob letztere nur Ein- oder Auflagerungen von tingirbaren Granulis an den Fäden wären“.

Les éléments chromatophiles ne sont donc pas complètement indépendants de la substance achromatique et ils ne sont pas exclusivement formés par des granulations chromatiques unies entre elles par une substance amorphe comme le pensent NISSL, BECKER, v. LENHOSSEK et LUGARO; mais dans la constitution de chaque élément chromatophile, quelque petit qu'il

(1) FLEMMING : *Ueber die Structur centraler Nervenzellen bei Wirbelthieren*; Anat. Hefte, 1896, T. 567.

(2) FLEMMING : *Ueber den Bau der Spinalganglienzellen*; Arch. f. mikr. Anat., 1895, p. 385.

soit, intervient une partie du réseau protoplasmatique. Ce réseau forme en quelque sorte la charpente du bloc chromatique. Ce sont les points nodaux et les trabécules de ce réseau qui, en s'imprégnant et en s'incrétant de substance chromatique, s'épaississent, se rencontrent, se fusionnent et produisent les éléments chromatophiles de forme et de grandeur variées.

La partie chromatique du protoplasme cellulaire ne peut donc pas être regardée, avec BENDA (1), comme du protoplasme non différencié ou *neuroplasma* ayant une tendance à s'imprégner plus ou moins complètement de granulations basophiles; par opposition avec la partie achromatique, laquelle, formée probablement de fibrilles nerveuses, représenterait la seule partie différenciée, l'*axoplasme* de BENDA.

La partie chromatique ne peut pas non plus être regardée avec LUGARO comme formée uniquement de substance chromatique occupant les intervalles laissés libres par les fibrilles protoplasmatiques.

La partie chromatique présente, pour nous, la même structure que la partie achromatique; toutes deux sont formées d'un réseau protoplasmatique baignant dans un liquide incolore : l'enchylème. Ce qui distingue la partie chromatique de la partie achromatique, c'est que les trabécules du réseau protoplasmatique se sont imprégnées, à ce niveau, d'une substance chimique spéciale sensible aux couleurs basiques d'aniline.

Cette structure du protoplasme cellulaire n'appartient pas en propre aux cellules motrices; elle s'observe aussi, plus ou moins nettement accusée, dans toutes les cellules somatochromes du névraxe. Partout on retrouve comme éléments constitutants : un réseau protoplasmatique baignant dans un liquide incolore, puis de la substance chromatique imprégnant une partie plus ou moins considérable de ce réseau. Ce qui fait donc que les cellules nerveuses, colorées par le bleu de méthylène, diffèrent l'une de l'autre au point de vue morphologique, c'est uniquement la façon particulière dont la substance chromatique s'y trouve répartie. Si l'on considère maintenant, d'après les recherches de NISSL, que toutes les cellules qui remplissent les mêmes fonctions présentent une répartition plus ou moins identique de la substance chromatique; tandis que les cellules nerveuses, qui remplissent des fonctions physiologiques différentes, diffèrent aussi l'une de l'autre par le mode dont la substance chromatique y imprègne le réseau achromatique, on arrive à la conclusion que le mode de répartition de la substance sensible

(1) BENDA : *Ueber die Bedeutung der durch basische Anilinfarben darstellbaren Nervenzellen-structuren*; Neurolog. Centralbl., 1895.

aux couleurs d'aniline dépend sans aucun doute de la forme et de la disposition spéciale du réseau protoplasmique, et que celles-ci à leur tour sont en connexion étroite avec la fonction du neurone.

Cette manière de comprendre l'anatomie fine de la cellule nerveuse et le mode de constitution des éléments chromatophiles fait entrevoir, par le fait même, la valeur fonctionnelle que nous avons attribuée à la partie chromatique et à la partie achromatique du protoplasme cellulaire.

Pour nous, la partie achromatique représente l'élément constituant principal de la cellule nerveuse; la substance chromatique, au contraire, n'est qu'une substance secondaire, nullement indispensable, à l'élément nerveux; - espèce de substance de réserve, disions-nous ailleurs (1), qui s'accumule dans le protoplasme cellulaire pendant l'état de repos du neurone, qui diminue pendant son activité fonctionnelle, qui se désagrège et se dissout dès que le neurone est lésé dans son intégrité anatomique ou fonctionnelle. Cette substance chromatique n'existe d'ailleurs pas dans toute cellule nerveuse; elle n'est donc pas indispensable à la vie du neurone -.

B. Cellules des ganglions spinaux.

Le protoplasme des cellules nerveuses constituant les ganglions cérébro-spinaux est formé, comme le protoplasme des cellules motrices que nous venons de décrire, d'une partie sensible aux couleurs basiques d'aniline ou partie chromatique et d'une partie achromatique.

FLEMMING a décrit le premier, en 1882, dans les cellules des ganglions spinaux des mammifères, l'existence de granulations (*Körner*) fixant les matières colorantes et de fins filaments à trajet irrégulier et fluxueux. Ces deux éléments figurés du protoplasme cellulaire, granulations et filaments, peuvent se présenter sous une forme différente d'une cellule à l'autre : dans les petites cellules, les granulations chromophiles sont généralement fines et les filaments plus serrés, ce qui donne à ces cellules un aspect foncé; dans les cellules plus grandes, les granulations chromophiles sont plus volumineuses et plus distantes l'une de l'autre, ce qui donne au protoplasme de ces cellules un aspect plus clair.

NISSL (2) a étudié ces granulations avec sa méthode de coloration au bleu de méthylène. Il les décrit comme des - grösseren oder kleineren rund-

(1) VAN GEHUCHTEN : *Anatomie du système nerveux de l'homme*; 2^e édition, Louvain, 1897, p. 253.

(2) NISSL : *Mittheilungen zur Anatomie der Nervenzelle*; Jahressitz. des Vereins der deutschen Irrenärzte zu Frankfurt a.M., 1893; Allgem. Zeitschr. f. Psych., Bd. 50, 1894, pp. 370-376.

lichen, ovalen oder sphärischen, manchmal auch eckig und unregelmässig geförmten Knötchen die allerfeinste fadige Ausläufer besitzen -. Ces granulations chromatiques sont disposées, d'après lui, en couches concentriques autour du noyau.

v. LENHOSSEK (1) n'a pu retrouver, dans les cellules des ganglions spinaux du bœuf - weder eigentliche Fibrillen, noch aber kurze Fädchen, sondern eine schwach färbbare Grundsubstanz und in diese in grosser Menge eingestreut lauter kleine Körnchen, die den angewandten Farbstoffen gegenüber grosse Affinität zeigen -. Ces corps chromophiles sont en général beaucoup plus fins que les blocs plasmatiques (Plasmaschollen) décrits dans les cellules nerveuses du névraxe et ne leur sont nullement comparables. Ces granulations n'émettent pas de prolongements, contrairement à la manière de voir de NISSL. v. LENHOSSEK ne trouve partout que des - abgerundete, scharf begrenzte Knötchen -.

FLEMMING (2) a repris alors l'étude de la structure interne des cellules des ganglions spinaux. Il avoue que la description donnée par v. LENHOSSEK des cellules des ganglions spinaux du bœuf est conforme à la réalité : les granulations chromophiles sont petites et leur disposition en couches concentriques n'est guère nettement prononcée.

Dans les cellules du ganglion de GASSER de l'homme, la structure est presque la même, avec cette seule différence que les granulations sont plus grosses.

Dans les ganglions spinaux du lapin, du chat et du chien, il trouve un mélange de cellules à granulations fines et de cellules à granulations plus volumineuses atteignant et dépassant même le volume des blocs chromatiques des cellules nerveuses du névraxe. Ces blocs granuleux (Körnerschollen) ne sont que des agglomérations de granulations plus fines. Il n'existe pas de motif pour ne pas attribuer la même valeur à ces blocs chromatiques des cellules des ganglions spinaux et à ceux des cellules nerveuses centrales, puisqu'ils possèdent la même affinité pour les matières colorantes et qu'ils peuvent se présenter sous le même volume. S'il en est ainsi, dit FLEMMING, on doit attribuer la même valeur aux granulations plus fines qui caractérisent les cellules des ganglions spinaux chez le bœuf et chez l'homme.

A côté de ces granulations chromophiles, FLEMMING admet encore l'exis-

(1) v. LENHOSSEK : *Der feineren Bau des Nervensystems...*; Berlin, 1895.

(2) FLEMMING : *Ueber den Bau der Spinalganglienzellen bei Säugethieren, und Bemerkungen über den der centralen Zellen*; Arch. f. mikr. Anat., Bd. 46, 1895, pp. 379-394.

tence de filaments dans le protoplasme cellulaire. Ces filaments sont, d'après lui, généralement en rapport avec les amas granuleux. Ils ont un trajet irrégulier et flexueux; on peut les poursuivre quelquefois sur une certaine longueur, sans qu'il soit cependant possible d'établir, d'une façon précise, si ces filaments s'anastomosent les uns avec les autres de façon à donner naissance à un réseau.

A côté de ces éléments figurés, granulations et filaments, tous les deux plus ou moins sensibles aux matières colorantes, il existe encore, d'après FLEMMING, une substance interfilaire, plutôt granuleuse que spongieuse, sans qu'il lui soit possible d'affirmer si cet aspect granuleux de la substance interfilaire est artificiel ou naturel.

- Die Existenz eines Fadenwerkes in den Zellen an den Präparaten, conclut FLEMMING, steht also ausser Zweifel. -

Cette structure fibrillaire de la partie achromatique a été admise également par LEVI (1).

A la 10^e réunion de la Société anatomique tenue à Berlin en 1896, v. LENHOSSEK a répondu aux objections de FLEMMING. Il avoue que, dans les cellules des ganglions spinaux du chien et du chat, il existe des blocs chromatiques souvent disposés en couches concentriques, contrairement à ce que l'on observe dans les ganglions spinaux du bœuf où les granulations chromatiques sont excessivement fines et réparties sans ordre dans toute l'étendue du corps cellulaire. A côté de cette substance chromatique, les cellules des ganglions spinaux présentent encore une substance achromatique ou fondamentale. v. LENHOSSEK n'admet pas l'existence des fibrilles décrites par FLEMMING, pas plus que les prolongements filiformes qui, d'après NISSL, portent des blocs chromatiques. Sur toutes ses préparations la substance fondamentale présente - ein feinwabig-körniges Gefüge. -

Dans la discussion qui a suivi cette communication de v. LENHOSSEK, REINKE a annoncé que, dans les ganglions spinaux du chat, il se rencontre quelques grosses cellules nerveuses complètement dépourvues d'éléments chromatophiles. Dans ces cellules il a pu se convaincre, en toute évidence, de l'existence de fibrilles excessivement fines, aussi fines que les fibrilles du prolongement cylindraxile. La disposition fibrillaire des granulations de NISSL dans les cellules qui en sont pourvues repose, d'après lui, uniquement sur la structure fibrillaire du protoplasme lui-même.

(1) LEVI : *Contributo alla fisiologia della cellula nervosa*; Rivista di patologia nervosa e mentale, 1896.

LUGARO (1) a étudié la structure de la partie achromatique dans les cellules des ganglions spinaux atteintes de chromatolyse périphérique à la suite d'intoxication expérimentale. Il affirme que, dans ces conditions, la coloration du protoplasme cellulaire par l'hématoxyline de DELAFIELD montre, en toute évidence, des fibrilles anastomosées entre elles, de façon à produire un réseau à mailles serrées dans les couches profondes et un réseau à mailles plus larges dans la zone périphérique.

Le volume, la forme et la disposition des éléments chromatophiles sont excessivement variables d'une cellule à l'autre. LUGARO ne distingue pas moins de cinq formes cellulaires différentes d'après la manière dont se comporte la substance chromatique.

DOGIEL (2) admet que le protoplasme des cellules des ganglions spinaux est formé d'une substance chromophile, d'une substance fondamentale et de fibrilles. La substance chromophile se présente le plus souvent sous forme de petites granulations, plus rarement sous forme de grains, plus rarement encore sous forme de blocs irréguliers. La substance fondamentale est homogène; quant aux fibrilles, elles se colorent plus ou moins vivement. Elles sont très fines, constituent deux systèmes (des fibrilles équatoriales et des fibrilles méridionales) et n'existent pas seulement dans le cône d'origine du prolongement unique, mais encore dans toute l'étendue du corps cellulaire. Entre ces fibrilles se trouvent des rangées de granulations chromophiles.

v. LENHOSSEK (3) a publié un travail étendu sur la structure des cellules des ganglions spinaux de l'homme. Il signale, dans ces cellules, l'existence d'une zone périphérique complètement dépourvue de granulations chromatiques.

Cette zone périphérique ne renferme rien d'autre, dit-il, que de fines granulations achromatiques : - feine, glänzende, ungleichmässige hervortretende Pünktchen. - La disposition de ces granulations achromatiques peut être régulière; le plus souvent elle est telle qu'elles semblent constituer un réseau à mailles très étroites. - Ihre Anordnung schien bald eine gleichmässige, bald aber — und dies entspricht wohl dem gewöhnlichen Verhalten — eine derartige zu sein dass sie sich mehr oder weniger zu

(1) LUGARO : *Sulla alterazione degli elementi nervosi negli avvelinamenti per arsenico e per piombo*; Rivista di patologia nerviosa e mentale, 1897.

(2) DOGIEL : *Der Bau der Spinalganglien bei den Säugethieren*; Anat. Anz., 1896, p. 150.

(3) v. LENHOSSEK : *Ueber den Bau der Spinalganglienzellen des Menschen*; Archiv f. Psych., Bd. 29, 1897, pp. 345-380.

einem Netzwerk mit sehr engen Maschen zusammenordnen, so dass der Eindruck einer wabigen Structur hervorgerufen wird. -

La partie achromatique du protoplasme des cellules nerveuses, conclut v. LENHOSSEK, possède donc une structure granulo-spongieuse (körnig-wabigen) ou mieux encore pseudo-spongieuse (pseudo-wabigen). Dans aucune de ses préparations il n'a pu se convaincre de l'existence d'une véritable structure fibrillaire.

Les fibrilles décrites et figurées par DOGIEL lui paraissent trop grosses et trop régulières pour qu'on puisse les identifier avec les fibrilles de FLEMMING.

MARINESCO, en étudiant les cellules des ganglions spinaux atteintes de chromatolyse périphérique, s'est prononcé également en faveur d'une structure réticulée du protoplasme de ces cellules nerveuses.

Les recherches que nous avons faites nous-même sur la structure du protoplasme des cellules des ganglions spinaux ne nous ont pas conduit à des résultats assez positifs pour prendre position dans le débat. Les coupes colorées par la méthode de NISSL, les seules que nous ayons eu le temps d'étudier jusqu'ici, ne permettent pas de pénétrer la structure de la partie achromatique. Quant à la partie chromatique, elle peut se présenter sous les formes les plus diverses. Dans les ganglions spinaux de porc, nous n'avons rencontré que de fines granulations chromatiques réparties sans ordre apparent dans toute l'étendue du corps cellulaire. Dans les ganglions spinaux du lapin, au contraire, on peut rencontrer, côte à côte, des cellules nerveuses dont les unes sont chargées de granulations chromophiles plus ou moins régulières, tandis que les autres présentent des blocs chromatiques en tous points comparables aux éléments chromatophiles des cellules motrices.

Dans un certain nombre de cellules atteintes de chromatolyse à la suite de la section du nerf périphérique, nous avons cependant rencontré d'une façon plus ou moins évidente, une structure réticulée.

En nous basant sur les recherches de LUGARO, de FLEMMING, de v. LENHOSSEK, et de MARINESCO et sur nos propres observations, quelque incomplètes qu'elles soient, nous croyons pouvoir admettre, pour le protoplasme des cellules des ganglions spinaux, la même structure réticulée que nous avons décrite pour le protoplasme des cellules motrices.

Ce qui caractérise les cellules des ganglions spinaux et ce qui les différencie des cellules motrices, c'est la forme spéciale sous laquelle s'y présente le *plus souvent* la substance chromatique.

Celle-ci, en effet, est généralement peu abondante dans les cellules des ganglions spinaux; de plus, elle semble se déposer de préférence au niveau des points nodaux du réseau protoplasmique, pour donner naissance à ces granulations chromatiques qui, dans les ganglions spinaux du bœuf, du porc et de l'homme, envahissent tout le corps cellulaire. Chez certains animaux cependant (lapin, chien et chat) les cellules des ganglions spinaux sont plus riches en substance chromatique; dans ces conditions elle incruste, avec les points nodaux, quelques-unes des trabécules du réseau pour donner naissance aux corpuscules chromatiques étoilés décrits par NISSL ou même aux filaments granuleux et aux éléments chromatophiles plus volumineux décrits par FLEMMING, LUGARO et MARINESCO et que nous avons rencontrés également dans un grand nombre de cellules nerveuses.

Quelle que soit d'ailleurs la forme sous laquelle se présente la substance chromatique dans les cellules des ganglions spinaux, une chose nous paraît certaine, c'est que, d'accord en cela avec FLEMMING, les éléments chromatophiles de ces cellules nous paraissent avoir la même valeur morphologique et fonctionnelle que les éléments chromatiques des cellules motrices.

Et ce qui prouve bien qu'il en est ainsi, ce sont les deux faits suivants : 1^o dans les cellules des ganglions spinaux excessivement riches en substance chromatique, les éléments chromatophiles prennent très souvent la forme, le volume et tous les autres caractères morphologiques des éléments chromatophiles des cellules motrices, la cellule des ganglions spinaux ressemble alors morphologiquement au corps d'une cellule motrice, abstraction faite des prolongements protoplasmiques; 2^o quand, dans une cellule motrice, la substance chromatique diminue considérablement, comme cela s'observe dans certains stades consécutifs à la section expérimentale du nerf périphérique, par suite de la désagrégation et surtout de la dissolution des blocs chromatiques, il arrive un moment où tout le corps cellulaire se trouve parsemé de fines granulations chromatiques. La cellule motrice ressemble alors en tous points à une cellule des ganglions cérébro-spinaux.

C. Cône d'origine de l'axone.

Dans l'étude que nous venons de faire de la structure interne du protoplasme des cellules motrices et des cellules des ganglions spinaux, nous avons négligé, à dessein, de parler du cône d'origine du prolongement cylindraxile. Le moment est venu d'en aborder l'étude.

L'endroit du corps cellulaire d'où naît le prolongement cylindraxile a

été signalé, pour la première fois, par BENDA en 1886 : « Der Axencylinderfortsatz, dit-il (1), zeigt gleichmässige dunkle Färbung und scheint meist einem dunkleren Theil der Zellen zu entspringen. » En se basant sur les résultats fournis par une méthode spéciale de coloration à l'hématoxyline, BENDA considéra ce cône d'origine comme dépourvu de granulations chromophiles, et comme formé de la même substance chromatique que celle qui consitue les éléments chromatophiles. SIMARRO (2) et SCHAEFFER (3), sans connaître les observations de BENDA, ont alors décrit ce cône d'origine de l'axone, dans les cellules nerveuses de la corne antérieure, comme complètement formé de substance achromatique. Le prolongement cylindraxile, dit SCHAEFFER, est homogène; il prend naissance « aus einem homogen-blassen, chromatinbaren, kegelartigen Abschnitt des Zellleibes. Das Chromatingerüst erscheint gegen diesen homogenen Hügel zu allmählich feiner gekörnelt ».

BENDA (4) s'est rallié à cette manière de voir.

Ce cône cellulaire, que FLEMMING (5) a désigné dans la suite sous le nom de *Polstelle* ou *Polkegel*, se montre avec la plus grande netteté dans les cellules des ganglions spinaux à la base du prolongement unique.

NISSL (6) le décrit dans les termes suivants : « Der Fortsatz, dit-il, entspringt meist aus einem Hofe von vorwiegend ungefärbten Substanz, der an der Peripherie der Zelle gelegen, sich gegen den übrigen Zellleib halbkreis- oder hufeisenförmig abgrenzt. » NISSL ne dit rien de sa structure interne si ce n'est qu'il est formé de substance achromatique.

V. LENHOSSEK partage la même manière de voir. Pour les cellules motrices de la corne antérieure de la moelle (7), il décrit le cône d'origine de l'axone comme transparent et homogène (durchsichtiger, homogener Beschaffenheit). Il revient sur ce cône d'origine à propos des cellules des ganglions spinaux (8) et le décrit également comme *homogène* : « Ich habe den Hügel » homogen » genannt, dit-il, weil er nicht nur im Verhältniss zu dem mit Körnchen überfüllten Zellleib diesen Namen in vollem Masse

(1) BENDA : *Ueber eine neue Farbemethode des Centralnervensystems und Theoretisches über Hamatoxylinfärbungen*; Verhandl. der phys. Ges. zu Berlin, 18 mai 1886.

(2) SIMARRO : *Investigaciones sobre la estructura de las células nerviosas*; 1890 (cité par CAJAL).

(3) SCHAEFFER : *Kurze Anmerkung über die morphologische Differenz des Axencylinders im Verhältnisse zu den protoplasmatischen beim Nissl's Fortsatzfärbung*; Neurolog. Centralbl., 1893, p. 173.

(4) BENDA : Neurolog. Centralbl., 1894, p. 81.

(5) FLEMMING : *Ueber den Bau der Spinalganglienzellen bei Säugethieren*; Arch. f. mikr. Anat., Bd. 46, 1895.

(6) NISSL : *Mittheilungen zur Anatomie der Nervenzellen*; Allg. Zeitschr. f. Psych., Bd. 50, 1894.

(7) V. LENHOSSEK : *Der feinere Bau des Nervensystems*; 1896, p. 157.

(8) Ibidem, p. 173.

verdient, sondern bei mittleren Vergrößerungen in der That auch vollkommen strukturlos, glasig durchsichtig erscheint. Mit den stärksten Immersionen betrachtet, bemerkt man freilich eine feine intime Struktur darin, dasselbe zarte achromatische schaumartige Gefüge, von dem oben die Rede war -. Ce cône d'origine, pas plus que le prolongement cylindraxile, ne présente aucune trace de structure fibrillaire.

Pour mieux mettre en évidence la partie du protoplasme cellulaire qui ne se colore pas avec la méthode de NISSL, HELD (1) s'est servi d'un procédé de double coloration : l'érythrosine qui colore intensément la substance achromatique de NISSL et le bleu de méthylène. Avec ce procédé, il a retrouvé le cône d'origine du prolongement cylindraxile dépourvu de granulations chromatophiles vis-à-vis des couleurs basiques d'aniline. Ce cône n'est pas homogène, pas plus que le prolongement qui en provient; mais il se montre nettement fibrillaire. On voit clairement, dit-il, - wie die feinsten, mit Erythrosin leuchtend roth gefärbten Körnchen sich dem eigentlichen Achsencylinder zu in Reihen ordnen, sich fester aneinanderfügen und, deutlicher von den Nebenreihen getrennt, zu Fibrillen sich zusammendrängen. Der Achsencylinder selbst erscheint längstreifig -. Des observations de HELD il résulte encore, que le cône d'origine de l'axone se continue insensiblement avec la substance achromatique du protoplasme cellulaire; contrairement à la manière de voir de v. LENHOSSEK qui semble vouloir établir une limite précise entre les deux parties : - Die Körnelung des Zellprotoplasmas, dit v. LENHOSSEK, hört an der Basis des Hügels mit einer scharfen, konkaven Linie auf -.

FLEMMING (2) a étudié, à la même époque, le prolongement conique des cellules des ganglions spinaux sur des matériaux durcis par l'alcool et par le sublimé et colorés lentement par l'héματοxyline. Il a trouvé, dans ces conditions que ce prolongement conique avait une structure nettement fibrillaire.

Cette structure fibrillaire, dit FLEMMING, avait été vue, pour la première fois, par REINKE, vers la fin de l'année 1894, sur des matériaux fixés par le liquide de HERMANN. Cet épanouissement fibrillaire de l'axone dans le corps de la cellule nerveuse n'existe que dans la partie périphérique du cône, tandis que sa partie centrale présente - eine mehr verworren-faserige Structur, keineswegs aber eine bloss körnige oder schaumige -. Cette même structure fibrillaire se rencontre dans le prolongement cylindraxile.

(1) HELD : Loc. cit.

(2) FLEMMING : *Ueber den Bau der Spinalganglienzellen bei Säugethiere*; Arch. f. mikr. Anat., 1895.

CAJAL (1) décrit le cône polaire comme dépourvu de grumeaux et de grains chromatiques; ceux-ci disparaissent insensiblement et les filaments du spongioplasme se condensent en un réseau serré et pâle se continuant avec la trame fibrillaire de cette expansion.

A la 10^e réunion de la Société Anatomique tenue à Berlin en 1896, v. LENHOSSEK (2) est revenu sur la structure du cône d'origine de l'axone. Il confirme cette fois les observations de FLEMMING concernant la fine striation fibrillaire du prolongement cylindraxile et de son cône d'origine, mais il croit que la disposition de ces fibrilles dans le cône n'est pas telle que FLEMMING l'a décrite : - Die Fibrillen scheinen ihm nicht einfach pinselförmig aus dem Fortsatz in dem Hügel, sondern in letzterem eine Art Wirbel zu bilden mit der Einpflanzungsstelle des Fortsatzes als Mittelpunkt. -

Dans son travail le plus récent sur la structure des cellules des ganglions spinaux de l'homme (3), v. LENHOSSEK a signalé également la structure fibrillaire du prolongement de ces cellules nerveuses. Dans le cône d'origine de ce prolongement il n'a pu retrouver des fibrilles, mais bien - eine undeutliche feinkörnige Structur. - Dans les cellules des ganglions spinaux du chien il a pu poursuivre les fibrilles jusque dans le cône polaire, mais ces fibrilles ne présentent pas la disposition décrite par FLEMMING. Sur des coupes longitudinales il n'a jamais vu que - eine feine dichte Punktirung oder Andeutungen einer verworrenen Geflechtstructur -. Sur des coupes transversales du cône lui-même il a vu - eine feine blasse circulären Streifung um den Fortsatz herum die sich gegen die Ränder der Scheibe hin allmählig verlor -. Il conclut de ces observations - dass die Fibrillen des Fortsatzes im Kegel eine Spiraltour, eine Art von Wirbel mit dem Fortsatz als Mittelpunkt beschreiben, dass sie aber schon in einiger Entfernung vom Rande des Kegels, ohne an das körnige Zellplasma heranzutreten, ihr Ende erreichen -.

DOGIEL (4) a étudié, à l'aide de sa méthode au bleu de méthylène, la structure des cellules nerveuses des ganglions spinaux. D'après lui, le cône d'origine du prolongement unique renferme des granulations chromophiles comme le reste du protoplasme cellulaire. Il présente une structure nettement fibrillaire. Ces fibrilles peuvent être poursuivies à travers toute l'étendue du corps de la cellule nerveuse.

(1) CAJAL : *Estructura del protoplasma nervioso*; Rivista trim. micrographica, 1895.

(2) v. LENHOSSEK : *Ueber Nerven-ellenstructuren*; Loc. cit.

(3) v. LENHOSSEK : *Ueber den Bau der Spinalganglienzellen des Menschen*; Arch. f. Psychiatrie, 1897.

(4) DOGIEL : *Der Bau der Spinalganglien bei den Säugethieren*; Anat. Anz., 1896, p. 150.

LUGARO et MARINESCO admettent également que le cône d'origine du prolongement cylindraxile des cellules des ganglions spinaux, dépourvu d'éléments chromatophiles, présente une structure nettement fibrillaire et que ces fibrilles peuvent être poursuivies jusque dans le protoplasme cellulaire où elles se continuent avec les trabécules du réseau.

Un fait dont on peut se convaincre avec la plus grande facilité, en employant la double coloration à l'érythrosine et au bleu de méthylène, c'est que le cône d'origine du prolongement unique des cellules nerveuses des ganglions spinaux est complètement dépourvu de granulations chromatophiles. Nos observations nous obligent donc à nous ranger du côté de BENDA, NISSL, v. LENHOSSEK, FLEMMING, LUGARO et MARINESCO et à combattre l'opinion de DOGIEL, d'après laquelle les éléments chromatophiles s'observeraient également dans ce cône.

Quant à la structure interne de ce cône d'origine, nous devons admettre avec v. LENHOSSEK, que, sur des coupes provenant de pièces fixées dans l'alcool à 96° et colorées à la fois par l'érythrosine et le bleu de méthylène, la structure fibrillaire de ce cône n'est nullement évidente.

Un cône achromatique a été décrit également, par la plupart des auteurs, au point d'origine de l'axone des cellules motrices. Nous ne voulons nullement contester la rectitude de cette observation. Mais nous devons cependant faire remarquer que, dans les centaines de coupes passant par des noyaux moteurs des diverses régions du névraxe que nous avons étudiées, il nous a été rarement possible d'affirmer avec toute certitude que le cône dépourvu d'éléments chromatophiles que l'on voyait à l'une ou l'autre cellule était bien le cône d'origine de l'axone. Il arrive, en effet, très fréquemment, que les granulations et les bâtonnets chromatiques font défaut à l'origine des prolongements protoplasmiques; de telle sorte que si ces prolongements ont été coupés dans le voisinage du corps cellulaire, ils peuvent en imposer pour le cône d'origine de l'axone.

Nous savons d'ailleurs, par la méthode de GOLGI, que le prolongement cylindraxile des cellules motrices ne naît pas toujours du corps même de la cellule nerveuse, mais que très souvent il provient d'un tronc protoplasmique dans le voisinage plus ou moins immédiat du corps cellulaire. DOGIEL admet d'ailleurs (1), pour les cellules des ganglions sympathiques et pour

(1) DOGIEL : *Zur Frage über den feineren Bau des sympathischen Nervensystems bei den Säugethieren*; Arch. f. mikr. Anat., Bd. 46, 1895, p. 339. — *Die Structur der Nervenzellen der Retina*; ibidem, p. 498.

les cellules ganglionnaires de la rétine, que le cône d'origine de l'axone est pourvu de granulations chromatiques comme les cônes d'origine des prolongements protoplasmiques, que tous ces cônes ont une structure nettement fibrillaire et que la seule différence qui existe entre l'origine de l'axone et l'origine des prolongements dendritiques, c'est que des trois éléments qui constituent tout le protoplasme cellulaire (fibrilles, substance fondamentale et granulations chromatiques), les fibrilles prédominent dans le cône d'origine de l'axone, tandis que la substance fondamentale prédomine dans le cône d'origine des prolongements protoplasmiques. Les deux renferment des granulations chromatiques.

v. LENHOSSEK⁽¹⁾, rappelant ces observations de DOGIEL, fait remarquer à juste titre que l'absence de pôle conique achromatique au point d'origine du cylindre-axe dans les cellules étudiées par DOGIEL ne prouve nullement que ce cône doit faire défaut également aux cellules motrices et aux cellules des ganglions spinaux. Ce cône d'origine (*Ursprungshügel*) ne lui paraît exister que pour certaines espèces de cellules; c'est ainsi qu'il fait défaut aux cellules de PURKINJE du cervelet et aux cellules pyramidales de l'écorce.

De toutes ces observations sur le cône d'origine de l'axone, il semble donc résulter que, s'il existe d'une façon constante aux cellules des ganglions spinaux, il peut faire défaut aux cellules motrices et manque le plus souvent pour toutes les autres cellules du névraxe. Ce cône présente une structure nettement fibrillaire; les fibrilles qui le constituent s'écartent les unes des autres à leur entrée dans le corps cellulaire, pour se continuer avec les trabécules du réseau protoplasmique.

D. Le Noyau.

Pour terminer l'étude de l'anatomie fine de la cellule nerveuse, il nous reste encore à parler du noyau.

Le noyau des cellules somatochromes (cellules motrices et cellules des ganglions spinaux) paraît avoir une structure excessivement simple. Sur des coupes du névraxe, fixées par l'alcool ou le sublimé corrosif et colorées par les couleurs basiques d'aniline, on voit que le noyau est nettement séparé du cytoplasme environnant par une membrane bien apparente. Son centre est occupé par un nucléole volumineux fixant énergiquement les matières

(1) V. LENHOSSEK : *Ueber den Bau der Spinalganglienzellen des Menschen*; Arch. f. Psychiatrie, 1897, p. 373.

colorantes d'aniline. Ce nucléole est le plus souvent unique. Quelquefois cependant on en rencontre deux. Il n'est même pas très rare d'en observer trois ou quatre. Ce nucléole paraît le plus souvent homogène. De temps en temps on y observe une ou plusieurs petites taches claires signalées déjà par NISSL, CAJAL et v. LENHOSSEK et que ce dernier considère comme des vacuoles. Sur des coupes colorées par le bleu de méthylène on voit encore vaguement quelques trabécules irrégulières et anastomosées entre elles se rendre du pourtour du noyau vers la face profonde de la membrane nucléaire. Cette partie organisée du caryoplasme se colore vivement par l'éosine ou par l'érythrosine. Elle se présente sous la forme d'un réseau à mailles très larges et très irrégulières, occupées par un liquide incolore. Ce réseau nucléaire a été bien décrit par v. LENHOSSEK : les trabécules qui le constituent ont des contours irréguliers, elles semblent constituées d'une masse fondamentale chargée de granulations plus ou moins volumineuses.

Ces granulations se colorent vivement par l'hématoxyline diluée de DELAFIELD. Dans le voisinage du nucléole et contre la face interne de la membrane nucléaire, ces granulations sont plus abondantes et plus serrées. Quand on emploie la double coloration recommandée par v. LENHOSSEK : bleu de méthylène et érythrosine, le nucléole seul fixe le bleu de méthylène, tandis que le réseau du caryoplasme se colore vivement en rouge : le nucléole est donc basophile tandis que la partie organisée du caryoplasme se montre acidophile.

LEVI⁽¹⁾ a coloré les cellules nerveuses du cobaye par la liqueur de BIONDI diluée et par un mélange de safranine, de fuchsine et de vert de méthyle. Le nucléole et le réseau du caryoplasme ont fixé la fuchsine, tandis que le vert de méthyle a mis en évidence quelques blocs irréguliers situés dans le voisinage immédiat du nucléole et qui, pour LEVI, représentent seuls la chromatine basique de HEIDENHAIN.

v. LENHOSSEK, qui a contrôlé les observations de LEVI sur les cellules nerveuses du chien et de l'homme, n'a pu retrouver les blocs basophiles de LEVI. Cet auteur semble attacher une grande importance à ce fait que le réseau du caryoplasme est acidophile; il en tire la conclusion que le noyau des cellules nerveuses forme exception à la règle commune : il serait privé complètement de chromatine ou de nucléine, contrairement à ce que l'on observe dans les noyaux des autres cellules de l'organisme. Nous ne pou-

(1) LEVI : *Su alcune particolarità di struttura del nucleo delle cellule nervose*; Rivista di patologia nervosa e mentale, 1896, pp. 141-148.

vons partager cette manière de voir de v. LENHOSSEK. Pour nous, d'accord en cela avec CAJAL, le noyau des cellules nerveuses (cellules motrices et cellules des ganglions spinaux) renferme de la chromatine ou mieux de la nucléine. Mais au lieu d'être répartie dans toute l'étendue du réseau caryoplasmatique, cette nucléine s'est condensée en un amas central pour constituer le *nucléole* : celui-ci serait donc un *nucléole nucléinien* dans le sens de CARNOY, tel qu'on en observe dans un grand nombre de cellules animales et végétales, notamment dans le noyau des œufs et dans les cellules de *Spirogyra*.

CHAPITRE II.

Modifications qui accompagnent les différents états fonctionnels.

Quand on compare entre elles les cellules nerveuses qui appartiennent à un même type morphologique, soit les cellules des ganglions spinaux, soit les cellules des noyaux moteurs, on trouve entre elles des différences plus ou moins profondes dans le degré de colorabilité. Ce fait a été signalé déjà par FLEMMING en 1882 pour les cellules des ganglions spinaux et a été attribué par lui à une richesse plus ou moins grande de ces cellules en granulations chromophiles.

Cette différence dans l'intensité plus ou moins grande avec laquelle se colore le protoplasme des cellules nerveuses a été étudiée principalement par FLESCH (1) et ses élèves, HÉLÈNE KONEFF (2), ANNA GITISS (3) et ANNA KOTLAREVSKY (4), pour les cellules des ganglions cérébro-spinaux. Ces auteurs divisent ces cellules en deux groupes : en *éléments chromophiles* et en *éléments chromophobes*. D'après eux, cette différence de colorabilité est liée à une composition chimique différente du protoplasme cellulaire indépendamment de la richesse de ces cellules en granulations et celle-ci n'est que la résultante d'un état fonctionnel différent. Ces éléments chromophobes et chromophiles existeraient aussi, d'après FLESCH, dans le système nerveux central. Le fait que le protoplasme d'une cellule nerveuse, toutes conditions étant égales, se colore tantôt fortement, tantôt faiblement et qu'entre ces deux extrêmes on peut rencontrer tous les degrés intermédiaires, prouve, dit FLESCH, que le protoplasme se comporte différemment au point de vue chimique; cette substance chimiquement différente du corps protoplasmique

(1) FLESCH : *Structurverschiedenheiten der Ganglienzellen in Spinalganglien*; Tagelbl. der 57. Vers. deutsch. Naturforscher, 1884. — *Ueber die Nervenzellen in den peripheren Ganglien*; Tagelbl. der Naturforscher zu Strassburg.

(2) FLESCH et KONEFF : *Bemerkungen über die Structur der Ganglienzellen*; Neurol. Centralbl., 1886.

H KONEFF : *Beiträge zur Kenntniss der Nervenzellen in der peripheren Ganglien*; Inaug. Diss., Bern, 1886.

(3) A. GITISS : *Beiträge zur vergleichenden Histologie der peripheren Ganglien*; Inaug. Diss., Bern, 1887.

(4) KOTLAREVSKY : *Physiologische und microchemische Beiträge zur Kenntniss der Nervenzellen*; Inaug. Diss., Berne, 1887.

est, pour FLESCH, en relation intime avec l'état fonctionnel de la cellule nerveuse.

NISSEL (1) s'est élevé contre cette manière de voir. Pour lui, la différence dans la coloration n'est pas liée à des différences dans la composition chimique du protoplasme, mais elle est due uniquement à ce fait, déjà signalé par FLEMMING, que la substance chromatique est plus ou moins abondante, que les granulations sont plus ou moins grosses et plus ou moins serrées dans des cellules qui ont toutes la même structure.

Ces mêmes variations dans le degré de la coloration, que l'on observe si facilement dans les cellules des ganglions spinaux, se retrouvent dans les cellules du névraxe. Elles ne sont dues ni à des différences chimiques dans le protoplasme, ni à des structures cellulaires variables, mais uniquement et exclusivement à une richesse plus ou moins grande en substance chromatique. En excitant, par le courant faradique, le bout central d'un nerf facial du lapin, NISSEL a observé que dans le noyau d'origine du nerf excité les cellules intensément colorées étaient plus nombreuses que dans le noyau du côté opposé. Pour certaines de ces cellules, dit-il, on avait l'impression que la substance chromatique avait augmenté. Il ne veut tirer de ce fait unique aucune conclusion, mais exprime l'idée - dass möglicher Weise der verschiedene Tinctionsgrad der einzelnen Zellen innerhalb einer bestimmten Zellform doch insofern eine functionelle Bedeutung haben könnte, als dadurch innerhalb ein und derselben Function verschiedene physiologische Zuständen dieser Function anatomisch zum Ausdruck gelangen -.

Ainsi donc, conclut-il, il n'y a pas d'opposition entre cellules chromophiles et cellules chromophobes; les cellules fortement colorées et les cellules faiblement colorées ne sont pas nécessairement des cellules à fonction physiologique différente; mais une structure anatomique différente est seule la preuve morphologique d'une fonction différente.

Pour les cellules qui appartiennent à un même type anatomique et qui, par conséquent, remplissent la même fonction physiologique, on peut observer des variations dans le degré de la coloration; ces variations sont dues, d'après NISSEL, à un état physiologique momentanément différent.

Le degré de coloration d'une cellule nerveuse dépendant de sa richesse plus ou moins grande en substance chromatique, on peut admettre, pour les cellules d'un même groupe, trois états chromatiques correspondant à

(1) NISSEL : *Mittheilungen zur Anatomie der Nervenzellen*; Allgem. Zeitschr. f. Psychiatrie, Bd. 50, 1894, pp. 270-276.

trois états fonctionnels que NISSL désigne sous les noms de *état pyknomorphe*, *état apyknomorphe* et *état parapyknomorphe*. Une cellule est en état pyknomorphe quand la substance chromatique, très abondante, se présente en masses compactes, de telle sorte que la cellule se colore fortement par le bleu de méthylène. Cet état pyknomorphe serait, d'après NISSL, l'expression anatomique de l'état de *fatigue*.

Une cellule est en *état apyknomorphe*, quand la substance chromatique, peu abondante, se trouve éparpillée dans le protoplasme cellulaire; elle est alors, au point de vue fonctionnel, dans un état de *repos relatif*.

Les stades fonctionnels intermédiaires entre ces deux extrêmes correspondent à l'*état parapyknomorphe*.

NISSL avait décrit encore un quatrième état anatomique, dans lequel la substance chromatique se présente comme dissoute dans le protoplasme cellulaire, de telle sorte que tout le corps cellulaire prend une teinte uniforme. C'était l'*état chromophile* de NISSL. Les cellules en état chromophile avaient d'abord été considérées par NISSL (1), en partie comme des productions artificielles dues aux réactifs, en partie comme des cellules normales devenues impropres au fonctionnement et subissant par là même des modifications régressives. Plus tard (2), il est revenu sur cette manière de voir et il a considéré les cellules chromophiles comme des productions artificielles dues aux réactifs.

Ces dénominations de état pyknomorphe, état apyknomorphe et état parapyknomorphe n'ont encore, au point de vue fonctionnel, qu'une valeur relative. On commence seulement à entrevoir à quel stade fonctionnel correspond chacun de ces trois états chromatiques par lesquels peut passer le protoplasme d'une cellule nerveuse. Contrairement à la manière de voir de NISSL, HODGE (3) et MANN (4) considèrent l'*état pyknomorphe* comme étant l'expression anatomique de l'*état de repos* de la cellule nerveuse. NISSL (5) s'est rallié tout récemment à cette manière de voir.

(1) NISSL : *Mittheilungen zur Anatomie der Nervenzellen*; Allgem. Zeitschr. f. Psych., Bd. 50, 1894.

(2) NISSL : *Ueber die Nomenklatur in der Nervenzellenanatomie und ihre nächsten Ziele*; Neurolog. Centrallbl., 1895, p. 106, note.

(3) HODGE : *A microscopical study of changes due to functional activity in nerve-cells*; Journ. of Morphology, 1892.

(4) MANN : *Histological changes induced in sympathetic, motor and sensory nerve-cells by functional activity*; Journal of Anat. and Phys., 1894.

(5) NISSL : *Die Beziehungen der Nervenzellensubstanzen zu den thätigen, ruhenden und ermüdeten Zellzuständen*; Allgem. Zeitschr. f. Psychiatrie, 1896, p. 1253.

L'étude de la cellule nerveuse dans les différents états fonctionnels est une étude excessivement difficile. Nous avons vu plus haut que Nissl a excité, par le courant faradique, les fibres du bout central d'un nerf sectionné. Il a observé des variations dans le degré de coloration des cellules excitées, mais rien ne nous permet de considérer ces variations comme l'expression anatomique d'un état physiologique normal.

En étudiant l'action qu'exerce sur la constitution du protoplasme des cellules nerveuses du sympathique, l'excitation pendant quinze minutes du ganglion cervical supérieur du lapin, Vas (1) a observé une augmentation notable (environ d'un tiers) dans le volume du corps cellulaire, une diminution et quelquefois la disparition complète de la substance chromatique dans le voisinage immédiat des noyaux et une accumulation de la substance chromatique dans la couche périphérique du protoplasme cellulaire. Il en conclut que, pendant l'activité de la cellule nerveuse, les éléments chromophiles ont une tendance à se déplacer vers la périphérie du corps cellulaire. Des modifications considérables surviennent aussi dans le noyau : il devient plus volumineux, comme gonflé, en même temps qu'il quitte sa place pour se porter vers la périphérie; il peut aller si loin qu'il fasse saillie en dehors de la cellule.

Ces modifications de la cellule nerveuse, dit Vas, doivent être regardées comme des propriétés morphologiques caractéristiques de son état d'excitation. Il est cependant plus que probable que, dans les conditions physiologiques, ces modifications n'atteignent pas le même degré, puisque l'excitation qui arrive physiologiquement aux cellules nerveuses ne peut pas, sous le rapport de l'intensité, être comparée à l'excitation produite par le courant induit.

Hodge (2) a excité, par le courant induit, les ganglions intervertébraux de la grenouille et du chat pendant un temps qui varie depuis 30 minutes jusque 7 heures, avec des intervalles de repos variables. La méthode de coloration dont il s'est servi ne lui permettait pas d'étudier les modifications de la substance chromatique du protoplasme cellulaire. Dans les cellules

(1) VAS : *Studien über den Bau des Chromatins in der sympathischen Ganglienzellen*; Archiv für mikr. Anat., 1892.

(2) HODGE : *Some effects of stimulating ganglion-cells*; American Journ. of Psychology, vol. I, 1889. — *Some effects of electrically stimulating ganglion-cells*; ibidem., vol. II, 1889. — *The process of recovery from the fatigue occasioned by the electrical stimulation of ganglion-cells*; ibid., vol. III, 1891. — *A microscopical study of changes due to functional activity in Nerve-cells*; Journ. of Morphology, vol. VII, 1892.

des ganglions excités, il a observé une diminution considérable dans le volume du noyau, en même temps une déformation et une coloration plus foncée de ce dernier. Il y avait également une légère diminution dans le volume du corps cellulaire et un affaiblissement dans son pouvoir de réduction vis-à-vis de l'acide osmique.

LAMBERT (1) a repris les expériences de VAS. Il a retrouvé les mêmes modifications dans la partie chromatique du corps cellulaire; mais il n'a pu se convaincre des modifications de volume signalées par VAS.

MANN (2) a excité également pendant 15 minutes, par un courant faradique, le ganglion cervical supérieur du sympathique chez le lapin et le chat. Il a retrouvé les modifications signalées par VAS : augmentation de volume du corps cellulaire avec diminution de la substance chromatique dans la partie centrale de la cellule; mais, pour MANN, cette diminution n'est pas due à un déplacement des granulations chromatophiles du centre vers la périphérie, mais à une disparition sur place.

À côté de ces modifications dans le protoplasme, il y avait des modifications dans le noyau : le caryoplasme est devenu incolore et la chromatine du noyau a légèrement diminué; le noyau et les nucléoles ont augmenté de volume.

L'excitation intermittente du ganglion pendant 6 à 9 heures amène des modifications plus profondes : les noyaux se foncent et se ratatinent; les éléments chromatophiles sont moins nombreux et plus pâles.

LUGARO (3) a repris les expériences de VAS et de MANN. Il arrive à la conclusion que, pendant les premiers temps qui suivent l'excitation, on constate une augmentation de volume du corps cellulaire due à un état de turgescence de son corps protoplasmatique, accompagnée d'une légère augmentation de la substance chromatique; après un certain temps la cellule se fatigue, ce qui amène une diminution progressive dans le volume de son protoplasme avec une diminution correspondante dans la substance chromatique.

Toutes ces recherches ont été faites dans le but d'étudier les modifications qui surviennent dans le corps de la cellule nerveuse pendant son

(1) LAMBERT : *Notes sur les modifications produites par l'excitation électrique dans les cellules nerveuses des ganglions sympathiques*; Compt. rendus de la Société de Biologie, 4 nov. 1893.

(2) MANN : *Histological changes induced in sympathetic, motor and sensory nerve cells by functional activity*; Journal of Anat. and Phys., Ed. XLIX, 1894.

(3) LUGARO : *Sulle modificazioni delle cellule nervose nei diversi stati funzionali*; Lo Sperimentale, 1895.

activité physiologique. Mais comme NISSL (1) le remarque à juste titre, ces expériences ont manqué leur but. Rien ne nous autorise, en effet, à identifier une cellule en état d'activité physiologique avec une cellule excitée par le courant faradique. L'application d'un courant électrique sur un nerf n'est rien d'autre qu'une excitation anormale comparable en quelque sorte à n'importe quelle excitation chimique, thermique et traumatique. Et ce qui prouve qu'il en est bien ainsi, c'est que, en sectionnant ou en ligaturant le cordon intermédiaire du sympathique cervical chez le lapin, comme nous l'avons fait avec un de nos élèves, M. MOREAU, on constate au bout de quelques jours, dans les cellules du ganglion cervical supérieur, une augmentation considérable de volume, une désagrégation et une dissolution de la substance chromatique au centre du corps cellulaire et un déplacement des noyaux vers la périphérie; c'est-à-dire les mêmes modifications que celles signalées par VAS, MANN et LUGARO après l'application d'un courant faradique. Les expériences sus-mentionnées sont donc intéressantes parce qu'elles nous montrent qu'une excitation électrique, portée sur un nerf, réagit au loin sur les cellules d'origine des fibres qui le constituent et y amène des modifications profondes visibles au microscope. Mais ces expériences sont insuffisantes pour nous renseigner sur les modifications qui accompagnent l'*activité normale* des cellules nerveuses.

D'autres recherches entreprises par HODGE, MANN, DEMOOR et PERGENS sont plus instructives à cet égard.

HODGE (2) a pris des oiseaux (moineaux, hirondelles et pigeons) et les a tués les uns, le matin après une nuit de repos; les autres, le soir avant qu'ils ne rentrent au nid. Il a durci, dans l'acide osmique à 1 o/o des ganglions spinaux et des portions de l'écorce cérébelleuse et de l'écorce cérébrale (lobe occipital). Il a noté, dans les cellules fatiguées, une diminution plus ou moins considérable de volume accompagnée d'une diminution de la substance chromatique (affaiblissement du pouvoir de réduire l'acide osmique). Le noyau présentait également une diminution considérable de volume, ses contours étaient devenus irréguliers et les matières colorantes lui donnaient une teinte plus foncée.

Ces recherches patientes de HODGE ne nous renseignent malheureusement pas sur les modifications qui surviennent dans la substance chroma-

(1) NISSL : *Die Beziehungen der Nervenzellensubstanzen zu den thätigen, ruhenden und ermüdeten Zellzuständen*; Allg. Zeitschr. f. Psych., 1896, pp. 1147-1154.

(2) HODGE : *A microscopical study...*; Journal of Morphology, vol. VII, 1892.

tique. Les recherches de MANN (1) sont, sous ce rapport, plus fructueuses, parce que cet auteur s'est servi d'une méthode permettant de colorer la substance chromatique du protoplasme.

MANN a comparé les cellules pyramidales de l'écorce cérébrale et les cellules radiculaires de la moelle lombaire provenant de deux chiens dont l'un est resté au repos, tandis que l'autre avait été soumis pendant 10 heures à un travail musculaire continu. Il a comparé également les cellules de la rétine, des corps genouillés externes, des tubercules quadrijumeaux et des lobes occipitaux de quatre chiens auxquels il avait bandé pendant 12 heures un des deux yeux. Toutes ces recherches ont donné des résultats concordants. MANN en conclut que, pendant le repos, la substance chromatique augmente dans les cellules nerveuses, tandis que cette substance diminue pendant l'activité cellulaire. Cette diminution de la substance chromatique est due à sa disparition sur place. L'activité cellulaire est accompagnée d'un agrandissement du corps de la cellule nerveuse ainsi que du noyau et des nucléoles, tandis que la fatigue de la cellule se caractérise par une rétraction de son protoplasme, par une rétraction du noyau et la formation dans son intérieur d'une substance chromatique diffuse.

NISSL (2) a repris les expériences de MANN. N'ayant pu obtenir des résultats aussi nets que l'auteur anglais, il s'est adressé directement à ce dernier qui a bien voulu lui communiquer quelques-unes de ses préparations. NISSL conclut, de l'étude de ces dernières, que les dessins donnés par MANN sont beaucoup trop schématiques et que les observations microscopiques ne sont pas assez démonstratives pour permettre d'en tirer les conclusions formulées par le savant anglais.

Pour NISSL, la question des modifications anatomiques qui surviennent dans les cellules nerveuses pendant leur activité normale est loin encore d'être résolue. Il admet cependant avec HODGE et MANN que l'état pyknomorphe, qu'il avait considéré comme caractérisant l'état d'activité de la cellule nerveuse, est l'expression anatomique de l'état de repos. Par contre, ce que MANN et HODGE considèrent comme caractéristique de l'état de fatigue de la cellule nerveuse, sont des propriétés qui appartiennent aux cellules chromophiles; or celles-ci sont manifestement, pour NISSL, des états artificiels.

(1) MANN : *Loc. cit.*

(2) NISSL : *Allg. Zeitschr. f. Psych.* 1896.

DE MOOR (1) a également repris les expériences de MANN sur les cellules du centre psycho-optique du chien. Après avoir fermé un seul des deux yeux pendant un temps variable, il a trouvé, comme MANN, que les cellules du centre optique correspondant à l'œil ouvert sont moins riches en substance chromatique que les autres, que leur volume a diminué et que la forme du noyau est devenue irrégulière. Il affirme qu'après 10 minutes d'éclairage unilatéral, il n'a pu relever aucun signe de différenciation; après 30 minutes, il a constaté une modification dans la richesse de la substance chromatique sans que le noyau présentât une modification quelconque de forme.

PERGENS (2) a institué des expériences très ingénieuses sur l'action que la lumière exerce sur les éléments constitutants de la rétine des poissons. Il a constaté, à côté d'une rétraction du corps cellulaire et des prolongements qui en dépendent, une diminution du volume du noyau sous l'influence de l'excitant lumineux. Il a conclu de ses recherches que l'activité normale des cellules rétinienne, depuis les cellules visuelles (cônes et bâtonnets) jusqu'aux cellules ganglionnaires, s'accompagnait d'une rétraction du noyau en même temps que d'une diminution dans la quantité de chromatine ou de nucléine de ces derniers.

D'après PERGENS, les noyaux des cellules de la rétine, provenant de poissons qui ont séjourné pendant 24 heures à l'obscurité, sont chargés de blocs denses et compacts de chromatine ou nucléine. Cette abondance de nucléine condensée dans les noyaux caractérise le *stade obscurité* ou le *stade de repos*. C'est donc en quelque sorte un état pyknomorphe du noyau comparable à l'état pyknomorphe du protoplasme des cellules somatochromes.

Dans le *stade initial de travail* (quelques secondes à une minute d'exposition à la lumière), une partie de cette nucléine passe à l'état liquide. Cela pourrait faire croire à une augmentation de la nucléine dans les noyaux, dit PERGENS, puisque ceux-ci se colorent davantage; mais en réalité, il y a diminution de la nucléine avec dissémination sur une surface plus grande.

Dans le *stade d'activité ou de travail* proprement dit, les masses denses de nucléine se dissolvent et diminuent à mesure que la nucléine liquéfiée

(1) DE MOOR : *La plasticité morphologique des neurones cérébraux*; Arch. de Biologie, 1896, pp. 723-752.

(2) PERGENS : *Action de la lumière sur les éléments nerveux de la rétine*; Bull. de l'Acad. royale de médecine de Belgique, 1906. — *Action de la lumière colorée sur la rétine*; Annales de la Société royale des Sciences medic. et nat. de Bruxelles, t. VI, 1897.

est consommée. Ce stade a une durée variable; il serait difficile de lui assigner une limite précise. Il aboutit au stade de fatigue.

Ces résultats des recherches de PERGENS sur les cellules de la rétine sont difficilement comparables aux résultats des recherches faites sur les cellules nerveuses du névraxe. Les éléments de la rétine (surtout les cônes, les batonnets et les cellules bipolaires) présentent des noyaux chargés de nucléine tandis que leur corps protoplasmique, peu développé, est dépourvu de substance chromatique; au contraire, les cellules du névraxe, sur lesquelles ont porté les recherches de MANN et de DE MOOR, sont des cellules somatochromes à corps protoplasmique chargé d'éléments chromatophiles et à noyau pauvre en nucléine.

Peut-être la substance chromatique du protoplasme des cellules somatochromes remplit-elle, au point de vue de la nutrition de l'élément correspondant, le même rôle que la nucléine du noyau de certaines cellules caryochromes? S'il en était ainsi, les résultats des recherches de PERGENS viendraient donner un appui considérable aux résultats des recherches de MANN et de DE MOOR et l'on arriverait à la conclusion que *l'état d'activité d'une cellule nerveuse se caractérise par une augmentation de volume de son corps protoplasmique, accompagnée d'une diminution de sa partie chromatique.*

CHAPITRE III.

Modifications qui accompagnent les lésions du prolongement cylindraxile.

A. Cellules motrices.

Nous savons, grâce aux recherches de ces dernières années, que la section d'un nerf périphérique est suivie non seulement de la dégénérescence secondaire des fibres du bout périphérique (loi de WALLER), mais encore de la dégénérescence plus tardive des fibres du bout central (BERGMANN (1), DARKSCHEWITSCH (2), MAYER (3), FLATAU (4), etc.). De plus, cette section périphérique entraîne des altérations manifestes et constantes dans les cellules d'origine des fibres du nerf sectionné. Ces altérations ont été vues depuis longtemps par GUDDEN, FOREL et v. MONAKOW; mais c'est à NISSL que nous devons les premières recherches précises sur leur nature et leur localisation exactes.

NISSL (5) a arraché le nerf facial chez des lapins, il a sectionné aussi des nerfs périphériques dépendant de la moelle épinière et il a recherché, au moyen de sa méthode au bleu de méthylène, les altérations que ces lésions périphériques déterminent dans les cellules motrices. Quand la connexion entre une cellule nerveuse et le muscle périphérique est interrompu, dit NISSL, la cellule nerveuse subit des modifications régressives qui surgissent brusquement (*stürmisch*); elles atteignent leur maximum du 18^e au

(1) BERGMANN : *Ueber experimentelle aufsteigende Degeneration motorischer und sensibler Hirnnerven*; Arbeiten aus dem Institut f. Anatomie und Phys. des Centralnervensystems, Wien, 1892.

(2) DARKSCHEWITSCH : *Ueber die Veränderungen in dem centralen Abschnitt eines motorischen Nerven bei Verletzung des peripherischen Abschnitts*; Neurol. Centralbl., 1892, p. 658.

(3) MAYER : *Beitrag zur Kenntniss der aufsteigenden Degeneration motorischer Hirnnerven*; Jahrbücher für Psychiatric, Bd. XII.

(4) FLATAU : *Periphere Facialislahmung mit retrograder Neurondegeneration*; Zeitschr. f. kl. Medicin, Bd. 32, 1897.

(5) NISSL : *Ueber die Veränderungen der Ganglienzellen am Facialiskern des Kaninchens nach Ausreissung der Nerven*; Allgem. Zeitschr. f. Psychiatric, Bd. 48, 1892, pp. 197-198. — *Ueber experimentell erzeugte Veränderungen an den Vorderhornzellen des Rückenmarkes bei Kaninchen*; Allgem. Zeitschr. f. Psychiatric, Bd. 48, 1892, pp. 675-681. — *Ueber eine neue Untersuchungsmethode des Centralorgans speciell zur Feststellung der Localisation der Nervenzelle*; Centralbl. f. Nervenheilk. und Psychiatric, 1894, 1p. 337-344.

30^e jour après la lésion, pour rester quelque temps stationnaires. Puis, l'on voit quelques cellules disparaître totalement, tandis que les autres, et ce sont les plus nombreuses, commencent insensiblement à se régénérer, de telle sorte que 50 à 60 jours après la section il devient difficile, pour un œil non exercé, de distinguer les cellules du côté lésé des cellules du côté sain.

Ces modifications cellulaires, consécutives à la section d'un nerf moteur, consistent principalement dans une altération particulière des blocs de substance chromatique, dans un gonflement du corps cellulaire et dans un déplacement du noyau. Elles ont été étudiées d'une façon complète par NISSL lui-même. Cette étude a été reprise par MARINESCO (1), LUGARO (2), FLATAU (3), COLENBRANDER (4) et VAN GEHUCHTEN (5), qui n'ont fait que confirmer les observations de NISSL.

Les modifications de la substance chromatique sont les plus précoces. Il s'agit, dit NISSL, - entweder um eine körnerartige Umwandlung der färbbaren Substanzportionen mit der Tendenz zum Rareficirung oder um eine Lockerung des Gefüges derselben, wobei die scharfe Conturirung verloren geht und auch die Färbbarkeit eine geringere wird, oder auch um eine directe Rareficirung derselben mit Abnahme der Färbbarkeit -. A cet ensemble de modifications qui intéressent la substance chromatique, MARINESCO a donné le nom bien approprié et généralement admis de *chromatolyse*.

Cette chromatolyse se manifeste déjà, d'après NISSL, dans les cellules d'origine d'un nerf facial arraché, 24 heures après la lésion périphérique. Elle débute, d'après NISSL, MARINESCO et LUGARO, au point d'origine de l'axone (NISSL), au niveau de la colline formée par le cylindre-axe (MARINESCO), pour envahir insensiblement en 4, 5 ou 6 jours, toute l'étendue du corps cellulaire.

Cette chromatolyse a été décrite d'une façon quelque peu différente par les trois auteurs.

(1) MARINESCO : *Théorie des neurones*; extrait de La Presse Médicale, Paris, 1895. — *Des poly-névrites en rapport avec les lésions secondaires et les lésions primitives des cellules nerveuses*; Revue neurologique, 1896, pp. 129-141.

(2) LUGARO : *Nuovi dati e nuovi problemi nella patologia della cellula nervosa*; Rivista di patologia nervosa e mentale, 1896, pp. 303-322.

(3) FLATAU : *Einige Betrachtungen über die Neuronlehre im Anschluss an frühzeitige, experimentell erzeugte Veränderungen der Zellen des Oculomotoriuskerns*; Fortschritte der Medicin, 1896, pp. 201-224.

(4) COLENBRANDER : *Over de structuur der Gangliencel uit den voorsten Hoorn*; Utrecht, 1896.

(5) VAN GEHUCHTEN : *Anatomie du système nerveux de l'homme*; 2^e éd., 1897.

D'après NISSL, - der Zerfall der Granula besteht darin, dass sich die Cohärenz der Chromatinkörper lockert, dass dieselben blasser werden und sich schliesslich in allerfeinste blasse Körnchen auflösen -.

Pour MARINESCO, - la première lésion observée après la section d'un nerf, c'est la dissolution partielle des éléments chromatophiles, lésion qui commence tout près de l'origine du cylindre-axe. Il se produit probablement une hydratation de la substance chromatique -.

LUGARO décrit la chromatolyse comme une fragmentation progressive des éléments chromatophiles.

Dans les recherches que nous avons faites nous-même en vue du présent rapport, nous avons vu la chromatolyse surgir directement au centre de la cellule nerveuse. Nous croyons qu'il ne s'agit pas simplement d'une désagrégation des blocs préexistants, mais de leur dissolution progressive et totale au sein du protoplasme cellulaire. Cette chromatolyse s'étend insensiblement aux blocs chromatiques des couches périphériques, de façon que vers le sixième jour elle a envahi presque toute l'étendue du corps cellulaire.

Les diverses phases de ces modifications cellulaires ont été étudiées avec beaucoup de soin par NISSL.

Au deuxième et au troisième jour qui suivent la lésion, dit-il, la chromatolyse envahit insensiblement les couches périphériques; elle s'étend même aux blocs chromatiques des prolongements protoplasmiques: ceux-ci prennent un aspect homogène. Le quatrième jour commence le gonflement de toute la cellule nerveuse qui devient sphérique. Le sixième jour, toute la structure primitive du protoplasme cellulaire a disparu; la cellule fortement gonflée et sphérique paraît comme recouverte de poussière: - der Zelleib erscheint wie bestäubt, dit-il, er macht den Eindruck als ob er von kleinen Färbtheilen überriesselt wäre -. Les prolongements protoplasmiques ne sont plus visibles. A cette époque, le noyau se déplace, gagne les couches périphériques du corps cellulaire et même peut faire plus ou moins saillie en dehors du protoplasme cellulaire. A partir de ce moment, dit NISSL, il disparaît à la vue. Au dixième jour, on trouve déjà de nombreuses cellules dégénérées, - die sich als unregelmässige blasse und leicht gekörnte Masse ohne Kernen und Fortsätze zeigen -.

Ces modifications ne surviennent pas en même temps dans toutes les cellules d'un même noyau moteur, de sorte que après 10 jours, NISSL rencontre encore des cellules complètement intactes, à côté d'autres en apparence complètement désorganisées (zerfallene).

A partir du douzième jour, les cellules gonflées, mais non dégénérées, commencent à diminuer de volume.

Dans un autre travail, Nissl admet que la chromatolyse atteint son maximum à une époque qui varie de 18 à 30 jours après la section. A partir de ce moment, il y a une période pendant laquelle les modifications restent stationnaires, bientôt suivie de la destruction ou d'une régénération lente, qui ramène la cellule à un état voisin de l'état normal environ 50 à 60 jours après la section.

Nissl ne se prononce pas sur le sort de ces cellules régénérées. Il croit cependant qu'elles sont destinées à disparaître, envahies qu'elles seraient à la longue par des modifications spéciales que l'on a désignées sous le nom d'atrophie cellulaire.

MARINESCO (1) donne des modifications cellulaires, consécutives à la section expérimentale d'un nerf moteur, une description qui concorde complètement avec celle de Nissl. Il distingue cependant deux phases au processus : une *phase de réaction* et une *phase de dégénérescence*. La phase de réaction consiste uniquement dans la dissolution plus ou moins complète des éléments chromatophiles ; elle n'intéresse que la substance chromatique, le *kinétoplasme* de MARINESCO (2), en laissant complètement intacte la substance achromatique ou *trophoplasme* de MARINESCO (2). Pendant cette phase, le bout central du nerf sectionné reste intact. - Ces lésions du kinétoplasme sont réparables, dit MARINESCO, et à mesure que le travail de la régénérescence des fibres coupées s'accroît, les éléments chromatophiles réapparaissent. -

Cette phase de réaction, il la désigne aussi sous le nom de *dégénérescence de Nissl*.

La phase de dégénérescence serait caractérisée par une désintégration

(1) MARINESCO : *Des lésions primitives et des lésions secondaires de la cellule nerveuse*; Comptes rendus de la société de Biologie, 25 janvier 1896. — *Des polynévrites...*; Revue neurologique, 1896, pp. 129-141.

(2) Nous ne comprenons pas pourquoi MARINESCO a donné le nom de kinétoplasme à la substance chromatique et le nom de trophoplasme à la substance achromatique. D'après les idées que nous nous formons de la valeur fonctionnelle des deux parties constitutives du protoplasme des cellules nerveuses, nous serions plutôt porté à renverser ces dénominations et à désigner sous le nom de *trophoplasme* la partie *chromatique*. Cette partie chromatique, dans l'état actuel de la science, semble représenter, en réalité, une matière de réserve accumulée dans le corps cellulaire pendant son état de repos et destinée à être utilisée par le neurone pendant son état d'activité. Nous désignerions sous le nom de *kinétoplasme* la partie achromatique du protoplasme, celle qui, selon toutes les probabilités, sert, au moins par sa partie organisée, le réseau protoplasmique et les fibrilles, à la transmission de l'influx nerveux.

du protoplasme accompagnant des lésions manifestes dans le bout central du nerf sectionné. Cette lésion nerveuse est irréparable, elle entraîne l'atrophie et la dégénérescence du cylindre-axe qui émane de la cellule. A cette seconde phase qui, chez le lapin, ne se manifeste qu'au bout d'un mois, MARINESCO propose de donner le nom de *dégénérescence de Hayem-Forel*.

LUGARO partage la manière de voir de MARINESCO. En colorant les cellules altérées par l'hématoxyline de DELAFIELD, il a pu constater que, pendant la phase de réaction, la partie achromatique conserve sa structure délicate normale, structure devenue apparente à cause de la désagrégation des éléments chromatophiles. Pendant la phase de dégénérescence au contraire, (phase qui commence par l'envahissement de tout le corps cellulaire par la chromatolyse et par le déplacement du noyau) la striation délicate du protoplasme cellulaire disparaît. Dans ce stade, la coloration par le bleu de méthylène montre que la partie la plus altérée du corps cellulaire reste claire et incolore; tandis que, avec la coloration par l'hématoxyline, le corps cellulaire se montre occupé par une quantité considérable de fines granulations. LUGARO ignore si ces granulations proviennent de la désagrégation de la substance chromatique et si elles représentent des parcelles altérées de cette substance, ayant perdu leur affinité naturelle pour les couleurs basiques, tout en ayant conservé leur affinité vis-à-vis de l'hématoxyline; ou bien, si ces granulations représentent un produit de la désagrégation de la substance achromatique.

Dans un travail ultérieur (1), MARINESCO est revenu sur sa première manière de voir. Il n'oppose plus l'une à l'autre la phase de réaction et la phase de dégénérescence, en ce sens que les cellules qui ne sont atteintes que par la phase de réaction seraient seules capables de revenir à l'état normal, tandis que les cellules arrivées à la phase de dégénérescence seraient irrémédiablement perdues. Il considère maintenant ces deux phases comme deux étapes successives d'un même processus (processus de réaction à distance) envahissant invariablement toutes les cellules d'origine d'un nerf sectionné. La phase de réaction conduit donc nécessairement à la phase de dégénérescence. Quant à celle-ci, - *elle peut* conduire à l'atrophie et à la disparition de la cellule nerveuse; mais, la plupart des cellules peuvent réparer leurs lésions, et, par conséquent, dit MARINESCO, il faut admettre une troisième phase ou *phase de réparation* -, signalée d'ailleurs par NISSL.

(1) MARINESCO : *Pathologie générale de la cellule nerveuse*; La Presse médicale, 27 janvier 1897.

Les phénomènes de réparation sont déjà très nets et certains au bout de vingt-quatre jours. Ils intéressent le volume de la cellule et sa richesse en substance chromatique. Les cellules en voie de réorganisation sont caractérisées par un volume plus considérable. - Les cellules hypertrophiées sont de vraies cellules géantes à côté des cellules atrophiées. - Cette hypertrophie s'accroît encore quarante-six jours après la section et se continue lentement jusqu'à quatre-vingt dix jours, terme extrême des observations de MARINESCO. En même temps que la cellule s'hypertrophie, elle reconstitue sa substance chromatique : les éléments chromatophiles deviennent denses et volumineux, ce qui donne à la cellule une coloration plus foncée qui caractérise l'état pyknomorphe de NISSL.

Enfin, tout récemment (1), MARINESCO semble disposé à ne plus admettre que deux phases : la phase de réaction et la phase de réparation. La phase de réaction n'atteint jamais que la substance chromatique, dit-il, elle ne retentit pas sur la structure du cylindre-axe et des nerfs périphériques. Pour que celui-ci soit atteint, il faut une altération de la substance achromatique, éventualité qui se présente dans les cas de lésions primitives de la cellule nerveuse. A la phase de réaction fait suite la phase de réparation ; pendant celle-ci, la cellule présente une hypertrophie considérable qui s'accroît jusqu'à 90 jours après la section et qui intéresse à la fois le volume général de la cellule et celui des éléments chromatophiles.

FLATAU a examiné les cellules d'origine du nerf oculo-moteur commun de deux jeunes chats, morts respectivement 3 et 13 jours après la section de ce nerf dans la cavité crânienne. Il y a constaté les phénomènes de chromatolyse signalés par NISSL (2).

COLENBRANDER a sectionné, chez le lapin, les deux troncs supérieurs du plexus brachial et a pu étudier les phénomènes de chromatolyse dans les cellules motrices de la corne antérieure de la partie correspondante de la moelle.

(1) MARINESCO : *L'histopathologie de la cellule nerveuse*; Revue générale des Sciences pures et appliquées, 30 mai 1897, pp. 406-413.

(2) Les cellules normales, que FLATAU a observées dans le noyau du côté lésé, nous semblent devoir représenter les cellules d'origine des fibres qui se rendent dans le nerf oculo-moteur commun du côté opposé. Nous sommes convaincu que si FLATAU avait examiné attentivement les cellules constitutives du noyau d'origine du côté sain, il y aurait rencontré quelques cellules en chromatolyse, c'est-à-dire les cellules d'origine des *fibres croisées* endommagées dans le nerf oculo-moteur commun sectionné. C'est ce que nous avons pu observer, en toute évidence, chez le lapin 10 jours après l'évidement d'une cavité orbitaire. Ces cellules normales dans le noyau du nerf sectionné et ces cellules en chromatolyse dans le noyau du nerf intact occupent la partie postérieure et supérieure de la masse grise qui donne origine à ce nerf.

Nous même, nous avons signalé les phénomènes de chromatolyse dans les cellules d'origine du nerf oculo-moteur commun du lapin trois jours après sa section.

Les recherches suivies que nous avons faites dans ces derniers temps sur les modifications qui surviennent dans les cellules nerveuses motrices à la suite de la section du nerf périphérique concordent, dans leurs grandes lignes, avec les descriptions données par NISSL, MARINESCO, LUGARO, FLATAU et COLENBRANDER. Elles ont porté principalement sur les cellules d'origine du nerf hypoglosse et du nerf pneumo gastrique chez le lapin, après la section de ces deux nerfs dans la région cervicale. Les animaux ont survécu 24, 32 et 40 heures, puis 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 15, 20, 36, 52, 53 et 92 jours. La description détaillée de ces modifications cellulaires nous entrainerait trop loin. Nous devons nous contenter, dans ce rapport, de décrire le processus dans ses grandes lignes.

Quand on examine le noyau d'origine d'un nerf hypoglosse de lapin 5 ou 6 jours après la section du nerf dans la région sus-hyoïdienne, et que l'on compare les cellules de ce noyau avec celles du côté non lésé, on voit de la manière la plus manifeste que les cellules qui appartiennent au nerf lésé ont subi des modifications profondes.

Ce qui frappe avant tout, même à un faible grossissement, c'est le volume considérable de toutes ces cellules, c'est leur teinte spéciale, d'un bleu légèrement transparent, c'est la disparition presque complète des éléments chromatophiles et, enfin, le changement de place du noyau. Si l'on étudie ces cellules à un grossissement plus considérable, on voit que c'est surtout le centre du corps cellulaire qui a perdu ses éléments chromatophiles; il se montre uniformément coloré d'une teinte bleue pâle qui va en se fonçant légèrement vers les couches périphériques, où l'on rencontre encore un bord plus ou moins large de granulations chromophiles. Ce corps cellulaire, ainsi uniformément teinté en bleu, se montre parsemé d'un grand nombre de fines granulations, souvent reliées les unes aux autres par des trabécules plus ou moins apparentes, de manière à donner l'impression d'un réseau protoplasmique. Le noyau a conservé son aspect normal : une membrane nucléaire régulièrement arrondie, un ou deux nucléoles et les trabécules vaguement indiquées du réseau caryoplasmique. Il est situé dans les couches périphériques du protoplasme, faisant quelquefois même une légère saillie au-dehors.

Comment ces modifications profondes ont-elles pu survenir? Si l'on

examine ces cellules d'origine d'un nerf hypoglosse pendant les premiers jours qui suivent la section, on voit que les premières modifications se manifestent environ 40 heures après la lésion, qu'elles débutent généralement au centre du corps cellulaire et que, de là, elles envahissent insensiblement les couches périphériques.

De l'étude attentive que nous avons faite de ces modifications aux différentes époques consécutives à la section du nerf, nous croyons pouvoir conclure que la modification principale, sinon unique, consiste dans la *dissolution de la substance chromatique*. Cette dissolution commence au centre même de la cellule nerveuse et, de là, progresse dans les couches les plus périphériques, jusque dans les prolongements protoplasmiques. Elle a comme conséquence immédiate la désagrégation *apparente* des éléments chromatophiles et le gonflement ou mieux la turgescence plus ou moins considérable du corps cellulaire. Cette dissolution de la substance chromatique semble débiter d'une façon assez brusque, le gonflement de la partie centrale du corps cellulaire qui en est la conséquence réagit sur le noyau et celui-ci, comme un corps étranger, se trouve refoulé dans les couches périphériques.

Ce qui prouve bien que la substance chromatique *se dissout* dans l'enchylème du protoplasme, c'est ce fait évident entre tous que, dès le troisième jour après la section, tout le protoplasme cellulaire se montre sensible au bleu de méthylène et prend une teinte uniforme, sur laquelle tranche la couleur plus foncée des granulations chromatophiles non encore dissoutes. Ces cellules nerveuses sont dans un véritable état de *chromophilie*, qui n'est nullement dû aux réactifs employés, mais qui n'est que la conséquence de la dissolution brusque de la substance chromatique.

C'est sur ces préparations que l'on peut voir, en toute évidence, que les éléments chromatophiles ne sont pas formés exclusivement par de la substance chromatique. Au fur et à mesure, en effet, que cette substance se dissout, on voit apparaître, à sa place, des granulations éparses qui ne sont rien d'autre que les points nodaux du réseau protoplasmique englobés dans l'élément chromatique.

Au cinquième et au sixième jour qui suivent la section du nerf hypoglosse, toutes les cellules constitutives du noyau correspondant présentent, à peu peu de chose près, le même degré de chromatolyse. Si l'on examine cependant les cellules de ce noyau 40 à 48 heures après la section, on voit que les modifications ne débutent pas au même instant et avec la même intensité dans toutes les cellules du noyau.

Les diverses cellules constitutives du noyau d'origine du nerf hypoglosse semblent donc présenter un degré de résistance quelque peu variable à la section de leur prolongement cylindraxile, en ce sens que les modifications de la substance chromatique, consécutives à cette section, se manifestent un peu plus rapidement dans une cellule que dans l'autre. Mais cette différence ne semble exister qu'au début; déjà au sixième jour qui suit la section, toutes les cellules présentent le même degré de chromatolyse.

Les résultats de nos recherches diffèrent donc sensiblement de ceux obtenus par NISSL. D'après cet auteur, il existerait encore des cellules complètement intactes, à côté d'autres en apparence complètement désorganisées, dans le noyau d'origine du nerf facial 10 jours après sa section. Ces cellules intactes ne nous semblent pas appartenir à des fibres sectionnées. NISSL aura probablement sectionné le nerf facial pendant son passage à travers la glande parotidienne, ou bien directement au sortir du trou stylo-mastoïdien. Mais, à ce niveau, le nerf facial a déjà abandonné quelques-unes de ses fibres constitutives. Rien d'étonnant donc que, dans le noyau d'origine, des cellules soient restées intactes. Les conditions sont tout autres pour le nerf hypoglosse. En le sectionnant dans la région sus-hyoïdienne, on est sûr d'interrompre toutes ses fibres constitutives; il s'en suit que toutes les cellules de son noyau d'origine doivent être atteintes par la chromatolyse.

Quelle est maintenant la marche ultérieure de ces modifications cellulaires?

Quand on étudie les cellules d'origine du nerf hypoglosse provenant de lapins ayant survécu plus longtemps à la section du nerf, on voit que la dissolution de la substance chromatique, le gonflement du corps cellulaire et la propulsion passive du noyau dans les couches périphériques augmentent jusque vers le quinzième jour après la section. A cette époque, toutes les cellules d'origine du nerf sectionné, sans exception aucune, sont débarrassées complètement d'éléments chromatophiles; elles ont l'aspect de vésicules plus ou moins transparentes, presque incolores au centre, mais encore teintées en bleu dans les couches périphériques, preuve que la substance chromatique dissoute immerge encore une partie du protoplasme cellulaire. Le noyau, quelquefois légèrement déformé par suite de la tension intracellulaire à laquelle il est soumis, occupe la zone la plus périphérique de la cellule, souvent même il fait saillie en dehors du protoplasme cellulaire; nous l'avons aussi rencontré quelquefois à moitié engagé dans le cône d'ori-

gine d'un prolongement protoplasmatique, d'accord en cela avec une observation analogue de SANO (1).

Au quinzième jour après la section, les modifications cellulaires semblent avoir atteint leur maximum d'intensité. Sur des coupes provenant du bulbe de lapins tués 20 jours après la section du nerf, on voit que les cellules commencent à se réorganiser : elles passent de la phase de réaction à la phase de réparation. Cette phase de réparation s'accroît dans les cellules provenant de lapins tués 30 et 40 jours après l'interruption du nerf. La teinte bleue du protoplasme cellulaire disparaît, l'état de chromophilie cesse, les éléments chromatophiles réapparaissent, en même temps que le noyau reprend sa place au centre du corps cellulaire.

Cette phase de réparation ne marche pas également vite pour toutes les cellules nerveuses. Dans les coupes du bulbe d'un lapin tué 36 jours après la section, on peut rencontrer les différences les plus profondes entre les cellules du noyau lésé. A côté de cellules nerveuses qui ont repris un aspect presque normal, on en trouve d'autres où les éléments chromatophiles se sont reformés autour du noyau, mais laissent encore inoccupée toute une zone périphérique du protoplasme. On y voit aussi des cellules où le noyau a conservé sa position périphérique et même quelques-unes où la substance chromatique, peu abondante, se présente sous forme de quelques rares granulations.

A partir du 20^e jour qui suit la section, il nous a semblé que les cellules nerveuses commencent à diminuer de volume. Cette diminution est excessivement lente, mais elle est continue; même 92 jours après la section, les cellules ne sont pas encore revenues à leur état normal.

Un autre caractère de ces cellules en voie de réparation, c'est que leur corps cellulaire devient bientôt beaucoup plus riche en substance chromatique que les cellules du noyau sain. Les éléments chromatophiles sont très volumineux, ils ont un aspect homogène et ne laissent entre eux que de minces traînées de substance achromatique, légèrement teintée elle-même par le bleu de méthylène. Ces cellules présentent manifestement l'état pyknomorphe au plus haut degré, ainsi que MARINESCO l'a déjà signalé.

Cet état pyknomorphe se retrouve encore sur des coupes provenant de lapins qui ont survécu 92 jours à la section du nerf.

(1) SANO : *Les localisations motrices dans la moelle lombo-sacrée*; Journal de neurologie et d'hypnologie, 1897, pp. 253-260 et 274-278.

De cette étude rapide il résulte donc que les modifications qui surviennent dans les cellules motrices, à la suite de la section expérimentale de leurs prolongements cylindraxiles, *intéressent exclusivement la substance chromatique*. Ces modifications font passer la cellule par deux phases bien distinctes : une *phase de dissolution de la substance chromatique* et une *phase de reformation des éléments chromatophiles*. La première phase se caractérise par la dissolution brusque de la substance chromatique débutant au centre de la cellule nerveuse et envahissant rapidement tous les éléments chromatophiles. Cette dissolution brusque de la substance chromatique entraîne la turgescence du protoplasme cellulaire; celle-ci produit une augmentation considérable du volume de la cellule nerveuse et est la cause de la propulsion passive du noyau dans les couches périphériques. Elle crée le stade de chromophilie. Cette première phase débute objectivement environ 40 heures après la section, elle atteint presque en même temps toutes les cellules lésées et dure en moyenne 15 à 20 jours pour faire place à la phase de reformation des éléments chromatophiles.

Cette seconde phase est la plus longue. Le travail de reconstitution des éléments chromatophiles se fait lentement, en même temps que la cellule diminue progressivement de volume. Cette phase persiste encore 92 jours après la section. Pendant toute sa durée, les cellules sont excessivement riches en blocs chromatiques denses et homogènes. Elle crée un véritable état pyknomorphe des cellules motrices.

Pendant toute la durée de ces modifications cellulaires, le noyau semble rester intact. Il ne fait que se déplacer passivement au début de la phase de dissolution des éléments chromatophiles, pour revenir insensiblement à sa position primitive pendant la phase de reconstitution des mêmes éléments.

MARINESCO s'est demandé (1) pourquoi, après la section du prolongement cylindraxile d'une cellule nerveuse, la substance chromatique disparaît?

Reprenant une idée émise déjà par v. LENHOSSEK (2), il estime que cette disparition de la substance chromatique est due - à ce que la cellule ne peut plus déterminer la décharge nerveuse par suite de la solution de continuité du cylindre-axe. - Cette explication n'est certes pas la bonne, car, vingt jours après la section, la substance chromatique recommence à se déposer dans le protoplasme cellulaire; elle y devient même plus abondante que

(1) MARINESCO : *Des lésions primitives et des lésions secondaires de la cellule nerveuse*; Comptes rendus de la Société de Biologie, 25 janvier 1905.

(2) v. LENHOSSEK : *Der feinere Bau des Nervensystems*; Berlin, 1895, p. 123.

dans une cellule normale et cela malgré la persistance de la solution de continuité du cylindre-axe.

Une question importante à résoudre est celle de savoir si *toutes les cellules* d'un noyau lésé passent de la phase de dissolution à la phase de reconstitution des éléments chromophiles.

NISSL (1) admet qu'un certain nombre de cellules nerveuses se détruisent, tandis que le plus grand nombre des cellules lésées retournent à l'état normal. Ces cellules, redevenues normales, seraient cependant destinées à disparaître plus tard par simple atrophie.

En 1887, FOREL (2) avait déjà défendu une opinion analogue. Chez un cobaye adulte, tué 262 jours après la section du nerf facial au sortir du trou stylo-mastoïdien, le nombre des cellules du noyau d'origine du facial était tombé de 224 à 120; chez un cobaye jeune, ayant survécu 141 jours à l'arrachement du nerf facial, le nombre des cellules était réduit à 5.

MARINESCO et LUGARO ont partagé à peu près la même manière de voir.

« On peut diviser les phénomènes qui se passent dans le bout central et la cellule avec laquelle il est en contact, après la section du nerf, en deux phases, disait MARINESCO au mois de mars 1896 (3). Dans la première, le bout central reste intact, tandis que dans la cellule, il se produit une réaction à distance, caractérisée par la dissolution plus ou moins complète des éléments chromatophiles. Dans la deuxième phase, il y a désintégration du protoplasme et des lésions dans le bout central du nerf sectionné. « Les lésions du kinétoplasma (lésion de la première phase) sont réparables, avait-il dit ailleurs (4), mais si, à la lésion du kinétoplasme succède une altération du trophoplasme (lésion de la seconde phase), la lésion de la cellule nerveuse est irréparable. »

Plus tard, le savant roumain, se basant sur de nouvelles recherches, a modifié quelque peu son opinion première. Toutes les cellules lésées ne parcourent pas nécessairement la phase de réaction et la phase de dégéné-

(1) NISSL : *Ueber eine neue Untersuchungsmethode des Centralorgans*; Centralbl. f. Nervenheilk. und Psychiatrie, 1894, p. 339, note

(2) FOREL : *Einige hirnanatomische Betrachtungen und ihre Ergebnisse*; Archiv f. Psychiatrie, 1886, p. 191. — *Ueber das Verhältniss der experimentellen Atrophie und Degenerationsmethode zur Anatomie und Histologie des Centralnervensystems*; Züricher Festschrift für NAGELI und KOLLIKER, Zurich, 1891.

(3) MARINESCO : *Des poly-névrites...*; Revue neurologique, 1896, pp. 134 et 135.

(4) MARINESCO : *Des lésions primitives et des lésions secondaires de la cellule nerveuse*; Comptes rendus de la Société de Biologie, 25 janvier 1896.

rescence, mais le plus grand nombre d'entre elles se conservent en passant de la phase de réaction à la phase de réparation.

- La phase de dégénérescence, dit-il (1), peut conduire à l'atrophie et à la disparition de la cellule nerveuse; mais la plupart des cellules peuvent réparer leurs lésions et, par conséquent, il faut admettre une troisième phase, ou phase de réparation. - --- - Certaines cellules, dit-il encore, ne pouvant suffire aux frais de réparation de leur prolongement périphérique s'atrophient et disparaissent, tandis que d'autres sont capables de fournir une quantité suffisante d'énergie et peuvent ainsi survivre à la section de leur cylindre-axe. -

LUGARO admet que, aussi longtemps que les phénomènes de réaction ne consistent que dans la désagrégation des éléments chromatophiles, la cellule peut revenir à l'état normal; mais dès que les troubles cellulaires sont assez profonds pour amener le déplacement du noyau, la lésion est irréparable et la cellule doit dégénérer. Or, nous avons vu que presque toutes les cellules nerveuses dont l'axone a été sectionné présentent ce déplacement du noyau. Il s'ensuit que, pour LUGARO, toutes ces cellules sont destinées à disparaître.

Le sort ultérieur de la cellule nerveuse motrice qui a subi la section de son prolongement cylindraxile, dit FLATAU (2), dépend tout entier du point de savoir si ce prolongement se remet ou non en connexion avec l'organe périphérique. Quand cette connexion fait défaut, les cellules d'origine disparaissent insensiblement.

De toutes ces recherches il semble résulter, que la section expérimentale d'un nerf moteur périphérique est suivie de la destruction complète d'un certain nombre des cellules nerveuses qui constituent son noyau d'origine.

Pour expliquer cette dégénérescence complète de quelques-unes au moins des cellules nerveuses du noyau lésé, les auteurs ont eu recours aux hypothèses les plus variées, dont aucune ne nous paraît satisfaisante.

NISSL ne donne pas d'explication; il se contente de signaler le fait.

Pour expliquer la manière différente dont se comportent les cellules d'origine d'un nerf facial arraché et d'un nerf sectionné, FOREL part de l'idée

(1) MAKINTSCO : *La Pathologie générale de la cellule nerveuse*; La Presse médicale, 1897.

(2) FLATAU : *Einige Betrachtungen über die Neuronlehre im Anschluss an frühzeitige experimentell erzeugte Veränderungen der Zellen des Oculomotoriuskerns*; Fortschritte der Medicin, 1896, p. 20

que la cellule nerveuse et la fibre nerveuse qui en dépend représentent une unité complète; chacune des parties qui la constituent est, au point de vue trophique, sous la dépendance de la partie voisine. Si la partie que l'on enlève à cette unité nerveuse est importante, dit FOREL, comme c'est le cas lors de l'arrachement du nerf, alors toute la cellule doit disparaître. Si, au contraire, la partie enlevée est petite, comme c'est le cas dans une section pratiquée à la périphérie, alors l'élément nerveux correspondant peut se conserver en vie.

V. LENHOSSEK fait remarquer à juste titre que cette explication donnée par FOREL ne cadre pas avec les résultats des recherches expérimentales de NISSL : quelque soit, en effet, l'endroit où le nerf a été sectionné, dit NISSL, cette section est toujours suivie des mêmes modifications cellulaires.

Pour expliquer les atrophies secondaires que l'on observe dans la moelle épinière d'anciens amputés, MARINESCO (1) a émis l'idée que les cellules nerveuses de la corne antérieure de la moelle ne conservent leur pleine intégrité anatomique que pour autant qu'elles reçoivent, d'une façon permanente, les excitations fonctionnelles qui leur viennent, par les fibres des racines postérieures, de la périphérie du corps. GOLDSCHIEDER (2) a admis cette opinion de MARINESCO. De plus, il pense que les excitations fonctionnelles nécessaires pour que la cellule nerveuse de la corne antérieure se conserve dans son état normal peuvent lui venir également, par les fibres pyramidales, des centres nerveux supérieurs.

FLATAU rappelle les opinions de MARINESCO et de GOLDSCHIEDER. Il pense, en outre, que, à la suite de la section d'un nerf moteur, les excitations normales transmises de l'écorce cérébrale aux cellules d'origine de ce nerf peuvent diminuer dans une large mesure et cela, parce que toutes les excitations venues de l'écorce se rendraient exclusivement dans le noyau du côté sain. Cette diminution dans le nombre des excitations, qui doivent entretenir l'état fonctionnel normal de la cellule motrice séparée de son prolongement cylindraxile, est considérée, par FLATAU, comme la cause immédiate de la dégénérescence d'un certain nombre de cellules nerveuses.

Nous reviendrons plus loin sur l'importance que ces excitations peuvent exercer et exercent réellement sur l'état anatomique et fonctionnel des neu-

(1) MARINESCO : *Ueber Veränderung der Nerven und des Rückenmarks nach Amputationen; ein Beitrag zur Nerventrophik*; Neurolog. Centralbl., 1892.

(2) GOLDSCHIEDER : *Zur allgemeine Pathologie des Nervensystems*; Berliner klin. Wochenschr., pp. 444-497.

rones, mais nous devons reconnaître, avec v. LENHOSSEK, que, dans le cas de la section périphérique d'un nerf exclusivement moteur, les cellules d'origine de ce nerf conservent toutes leurs connexions primitives et que, par conséquent, une diminution dans le nombre des excitations qui arrivent à ces cellules motrices ne peut être invoquée comme cause de la destruction d'un certain nombre de cellules nerveuses.

D'ailleurs, si ces facteurs (dont quelques-uns sont fort hypothétiques) avaient l'importance que leur attribue FLATAU, nous ne comprenons pas pourquoi *toutes* les cellules du nerf sectionné ne subissent pas le même sort.

v. LENHOSSEK (1) partage une autre manière de voir. Il pense, contrairement à l'opinion exprimée par MARINESCO, GOLDSCHIEDER et FLATAU, que les impulsions qui continuent à arriver aux cellules d'origine d'un nerf sectionné, soit par les fibres cortico-spinales, soit par les fibres réflexes des cordons postérieurs, exercent plutôt une influence nuisible sur ces cellules, et accélèrent leur destruction, parce que ces cellules se trouvent dans l'impossibilité absolue de se décharger des impulsions reçues.

Mais si cette opinion de v. LENHOSSEK correspondait à la réalité, toutes les cellules d'origine d'un nerf sectionné devraient disparaître, puisque toutes se trouvent dans les mêmes conditions anatomiques et fonctionnelles.

Pour nous, les modifications qui surviennent dans une cellule nerveuse à la suite de la section de son cylindre-axe ne sont pas aussi profondes et ne sont pas aussi importantes au point de vue fonctionnel du neurone que les auteurs le croient généralement. Ce ne sont pas des *phénomènes régressifs* comme NISSL les appelle; ce sont encore moins des phénomènes de *dégénérescence*, ainsi que semble le faire supposer la dénomination de *dégénérescence* de NISSL sous laquelle MARINESCO les désigne. Elles constituent, à nos yeux, la manifestation extérieure d'un simple trouble cellulaire qui n'intéresse en définitive que la substance chromatique. Celle-ci se dissout plus ou moins rapidement dans le protoplasme cellulaire; cette dissolution entraîne, comme phénomènes passifs, une turgescence considérable du corps cellulaire ainsi qu'un déplacement du noyau. L'élément constituant principal de la cellule nerveuse, le réseau protoplasmique, se conserve intact.

Ces modifications qui surviennent dans la substance chromatique sont uniquement la conséquence immédiate de la section de l'axone. Le prolon-

(1) v. LENHOSSEK : *Der feinere Bau des Nervensystems...*, Berlin, 1895, p. 123.

gement cylindraxile d'une cellule nerveuse forme une partie intégrante du neurone; ce prolongement se trouve, au point de vue génétique, nutritif et fonctionnel, sous la dépendance immédiate de la cellule nerveuse. La section de ce prolongement cylindraxile trouble profondément le neurone dans son unité anatomique et fonctionnelle. Rien d'étonnant que la cellule nerveuse dont dépend cet axone se ressente quelque peu de cette amputation. *La dissolution de la substance chromatique doit donc être regardée comme la manière spéciale par laquelle la cellule nerveuse réagit vis-à-vis d'une lésion périphérique.* Nous pouvons en conclure que cette substance chromatique elle-même doit jouer un rôle important dans la conservation anatomique du neurone; elle représente peut-être une substance chimique spéciale que la cellule a en réserve et qui lui est indispensable pour entretenir son intégrité anatomique.

Mais cette dissolution de la substance chromatique n'est pas le point de départ de la destruction de la cellule nerveuse. Ce qui le prouve, c'est que cette dissolution s'opère, avec la même intensité, dans toutes les cellules constitutives du noyau et, malgré cela, le plus grand nombre de ces cellules échappent à la destruction et redeviennent normales. Nous pensons que le *fait* de la dégénérescence d'un certain nombre de cellules nerveuses à la suite de la section d'un nerf moteur périphérique n'est nullement prouvé.

COLENBRANDER affirme que, sur des lapins tués 48 jours après la section des deux troncs supérieurs du plexus brachial, il n'a pu observer de diminution dans le nombre des cellules nerveuses dans la corne antérieure du côté lésé.

Nous-même, nous avons examiné attentivement plusieurs coupes du noyau d'origine du nerf hypoglosse sectionné depuis 52 jours, sans trouver des différences manifestes entre le nombre des cellules du noyau sain et celui du noyau lésé. Sur un certain nombre de coupes provenant du bulbe d'un lapin tué 92 jours après la section du nerf, il nous semblait que le nombre des cellules nerveuses dans le noyau lésé était de beaucoup inférieur à celui du noyau sain, mais sur des coupes voisines, les rapports nous paraissent renversés. De plus, sur des coupes provenant du noyau d'origine du nerf oculo-moteur commun d'un lapin tué *un an* après la section du nerf, il était difficile de dire si les cellules étaient moins nombreuses dans le noyau lésé que dans le noyau sain.

Pour trancher cette question, il ne suffit pas de compter, sur une coupe donnée, les cellules du noyau lésé et les cellules du noyau intact; des dif-

férences considérables dans le nombre des cellules nerveuses qui existent, à un niveau donné, dans les noyaux d'origine des deux nerfs hypoglosses s'observent en effet, même chez le lapin normal. Pour arriver à un résultat positif, il faut compter *toutes* les cellules constitutives du noyau lésé et *toutes* les cellules du noyau sain. Le temps nous a manqué pour faire ces recherches.

Nous devons cependant avouer que, de l'examen de nos nombreuses coupes, il nous est resté l'impression que, dans le noyau du côté lésé, il y a, selon toutes les apparences, une certaine diminution dans le nombre des cellules nerveuses.

Si ce fait devait se confirmer, nous ne considérerions pourtant pas cette disparition d'un certain nombre de cellules nerveuses comme le stade final du trouble fonctionnel consécutif à la section du nerf, mais nous demanderions si cette destruction d'un petit nombre de cellules nerveuses ne serait pas un fait purement accidentel dû à la dislocation exagérée du noyau. La section d'un nerf périphérique amène, avons-nous vu, la dissolution de la substance chromatique. Cette dissolution provoque une turgescence considérable dans le corps de la cellule nerveuse et le noyau se trouve brusquement refoulé vers les couches périphériques. Ce qui prouve que la direction suivie par ce noyau n'est pas toujours la même, c'est que tantôt on le trouve à la surface libre du corps cellulaire, tantôt il se trouve refoulé dans la base d'un prolongement protoplasmique. Tous les auteurs ont observé et figuré des cellules où le noyau faisait même légèrement saillie au dehors du corps cellulaire. Tous signalent aussi l'existence d'un certain nombre de cellules en chromatolyse complète et sans noyau. Personne cependant n'a vu jusqu'ici le noyau entièrement sorti du corps cellulaire. Nous demandons si une expulsion complète du noyau ne se produit pas, en réalité, dans un certain nombre de cellules nerveuses. S'il en était ainsi, la destruction complète de ces cellules s'expliquerait facilement, puisque nous savons que la conservation du noyau est une condition *sine qua non* de la conservation de la cellule correspondante.

En résumé donc, la section expérimentale d'un nerf moteur périphérique provoque, dans les cellules d'origine de ce nerf, des troubles profonds qui consistent avant tout dans une dissolution rapide de la substance chromatique suivie de la turgescence du protoplasme et d'un déplacement considérable du noyau. Aucune de ces modifications n'est cependant assez profonde pour désorganiser complètement le protoplasme cellulaire; aussi,

celui-ci reconstitue-t-il bientôt la substance chromatique dissoute pour reprendre son aspect normal. Ce n'est que dans des cas exceptionnels et tout à fait accidentels, quand la turgescence cellulaire a expulsé le noyau jusque en dehors de la cellule, que celle-ci dégénère et disparaît.

Les phénomènes de chromatolyse ne se produisent pas seulement, dans une cellule motrice, à la suite de la *section* complète de son axone; on les voit survenir aussi à la suite d'une simple ligature de ce dernier, ainsi que cela résulte manifestement de nos recherches personnelles, sur lesquelles nous reviendrons plus loin. On les observe aussi à la suite de l'irritation de ce nerf par un courant électrique (VAS, MANN, LAMBERT, LUGARO), à la suite du trouble fonctionnel déterminé dans le nerf périphérique par l'application de cristaux de chlorure de sodium (NISSL), à la suite même des lésions pathologiques les plus variées (compression, inflammation, etc.), qui interrompent momentanément ou définitivement la connexion anatomique ou fonctionnelle du neurone (MARINESCO, BALLEST et DUTIL, SANO, etc.).

La chromatolyse d'une cellule nerveuse peut donc être un phénomène important au point de vue des recherches anatomiques. Grâce à elle, nous avons entre les mains un moyen précieux, qui nous permettra d'aborder avec succès l'étude si importante des localisations des cellules nerveuses dans la substance grise de la moelle épinière, ainsi que SANO a déjà essayé de le faire. Mais au point de vue physiologique et pathologique, cette chromatolyse ne présente rien de spécial, rien de spécifique : c'est un simple trouble de la cellule nerveuse qui se produit infailliblement chaque fois qu'un obstacle quelconque s'oppose au fonctionnement normal du neurone, quels que soient d'ailleurs le siège et la nature de cet obstacle.

La durée de ces phénomènes de chromatolyse semble être en rapport immédiat avec l'état anatomique de l'axone au point lésé.

Nous avons vu qu'à la suite de la section complète du nerf hypoglosse, la phase de dissolution de la substance chromatique arrivait à son terme environ 20 jours après la section. Nous avons pratiqué alors, sur une série de lapins, la simple ligature du nerf. Le nœud a été maintenu serré pendant une minute, puis nous l'avons défait en ayant bien soin de ne pas sectionner le nerf. Les fibres nerveuses du nerf ont donc été interrompues, sinon anatomiquement, au moins fonctionnellement, au point d'application du nœud. Mais les deux bouts du nerf sont restés en contact, condition éminemment favorable à la régénération des fibres nerveuses.

Dans ces conditions, les cellules d'origine du nerf hypoglosse ont pré-

senté de la chromatolyse à partir du deuxième jour qui suit la section. Le degré de cette chromatolyse était quelque peu variable d'un lapin à l'autre, probablement à cause de la lésion plus ou moins profonde des fibres du nerf ligaturé. Le quatrième et le cinquième jour, la chromatolyse était assez avancée; toutes les cellules étaient gonflées et dans quelques-unes la chromatolyse avait entraîné le déplacement du noyau. Mais, chez tous nos animaux, le travail de reformation des éléments chromatophiles se montrait manifestement à partir du neuvième jour après la ligature.

Si la lésion du nerf périphérique, au lieu d'être nette et brusque comme l'est celle déterminée par la section ou la ligature, est, au contraire, une lésion qui persiste, même avec une intensité variable, pendant un temps plus ou moins long, nous voyons les phénomènes de chromatolyse des cellules correspondantes se prolonger également. C'est ici le lieu de signaler les observations de MARINESCO, de BALLET et DUTIL, de FLEMING, etc. Ces auteurs ont constaté les phénomènes de chromatolyse dans les cellules de la corne antérieure de la moelle dans des cas de polynévrites ayant duré plusieurs mois. Ces faits sont importants à constater. Ils prouvent, à ne pouvoir en douter, que la dissolution de la substance chromatique n'est, au point de vue de l'intégrité anatomique du neurone, qu'un phénomène secondaire, puisque cette chromatolyse peut persister pendant plusieurs mois sans amener la dégénérescence de la cellule elle-même.

B. Cellules des ganglions spinaux.

Des recherches expérimentales, sur les modifications qui surviennent dans les cellules des ganglions spinaux après la section de leur prolongement périphérique, ont été entreprises par LUGARO, MERING et R. FLEMING.

LUGARO a d'abord signalé (1) que, après la section d'un nerf spinal, les cellules des ganglions spinaux, examinées vingt jours après la section, ne présentaient que la phase de réaction caractérisée par la désagrégation de la partie chromatique périnucléaire et de celle voisine du cône d'origine du prolongement unique. Dans toutes ces cellules, le noyau, resté intact, conservait sa position normale au centre du corps cellulaire. Cette différence profonde entre la manière de réagir d'une cellule des ganglions spinaux et d'une cellule motrice de la moelle, après la section d'un nerf spinal, dépend

(1) LUGARO : *Nuovi dati e nuovi problemi nella patologia della cellula nervosa*; Rivista di patologia nervosa e mentale, 1896, p. 317.

plus que probablement, pensait LUGARO, du fait que la section d'un nerf spinal ne constitue qu'une mutilation partielle pour les cellules des ganglions spinaux, celles-ci conservant toujours leur prolongement interne.

LUGARO a repris alors ces expériences d'une manière plus suivie (1). Il a excisé, dans la région dorsale d'un chien, un lambeau de peau de 12 centimètres de largeur sur 30 centimètres de longueur. L'animal a été tué 18 jours après la lésion. Dans les ganglions spinaux en connexion avec le lambeau cutané excisé, LUGARO a trouvé quelques cellules altérées : les unes présentaient une chromatolyse plus ou moins avancée, sans altération ni déplacement du noyau; quelques autres, en très petit nombre, présentaient une déformation manifeste du corps cellulaire et du noyau et le déplacement de celui-ci à la périphérie du corps cellulaire, signe de lésion dégénérative, dit LUGARO, probablement irréparable.

Il a sectionné, sur des chiens, le nerf sciatique au niveau de l'articulation coxo-fémorale et a tué les animaux à des époques variables après la lésion. Douze jours après la section, il a rencontré dans les ganglions spinaux correspondants, à côté d'un grand nombre de cellules normales, toutes les phases possibles de l'altération cellulaire, depuis une légère chromatolyse avec noyau central, jusqu'à la déformation du corps cellulaire, désagrégation complète de tous les éléments chromatophiles, noyau ratatiné, coloré et déplacé vers la périphérie. Ces différences dans le degré de l'altération sont dues, d'après LUGARO, à la résistance variable que les cellules opposent à l'action perturbatrice.

Les ganglions spinaux des chiens tués après 39 jours présentaient des lésions bien plus profondes. LUGARO y signale une prolifération abondante de tissu conjonctif, une diminution manifeste dans le nombre des cellules nerveuses et, parmi les cellules restantes, la prédominance des cellules intactes.

De ces recherches, LUGARO tire la conclusion que la section du nerf périphérique détermine dans les cellules des ganglions spinaux, des modifications cellulaires qui varient dans des limites très larges d'après la résistance variable que les cellules opposent à la lésion et qui, pour certaines d'entre elles, vont jusqu'à la destruction complète de l'élément nerveux.

Les résultats obtenus chez le cobaye étaient quelque peu différents de ceux que nous venons de résumer. Vingt jours après la lésion, les cellules

(1) LUGARO : *Sulle alterazioni delle cellule nervose dei gangli spinali in seguito al taglio della branca periferica o centrale dell'oro prolungamento*; *Ibidem*, 1896, pp. 457-470.

des ganglions spinaux ne présentent qu'une chromatolyse centrale périnucléaire. Ce n'est que plus tard que la forme dégénérative devient plus évidente et que l'on observe la prolifération du tissu conjonctif.

LUGARO a sectionné aussi les racines postérieures des nerfs spinaux entre le ganglion et la moelle. Huit jours après la section, les cellules des ganglions spinaux étaient normales chez le chien, tandis que chez le chat elles présentaient un léger degré de diffusion de la partie chromatique, sans aucune modification de structure. Dans les ganglions spinaux d'un chien tué 40 jours après la section des racines postérieures, il n'a rencontré, comme fait anormale, qu'une accumulation extraordinaire de pigment, sans modification aucune dans la structure.

De toutes ces recherches, LUGARO tire la conclusion que, à la suite de la lésion de leur prolongement périphérique, les cellules des ganglions spinaux subissent un processus d'altération qui peut conduire à la mort et à la destruction de l'élément nerveux, tandis que ces cellules conservent leur structure normale à la suite de la section de leur prolongement central.

Dans un travail publié par DARKSCHEWISCH, l'auteur cite les résultats des recherches faites par MERING (1) sur les modifications cellulaires consécutives à la section du nerf sciatique chez le cobaye. Il arrive à la conclusion que, un certain temps après l'opération, les cellules d'origine de ce nerf présentent une atrophie manifeste.

ROBERT FLEMING (2) a sectionné le nerf sciatique chez le chien et le lapin et il a étudié, avec la méthode de NISSL, les cellules des ganglions spinaux à des époques variables après la section. Il conclut de ces recherches que les cellules s'altèrent manifestement; les modifications cellulaires débutent probablement au quatrième jour après la lésion, dit-il; elles sont indiscutables déjà après 7 jours. Il signale, comme une des premières modifications, une diminution de volume du noyau et du nucléole et leur position excentrique. FLEMING semble n'avoir constaté qu'une chromatolyse périphérique. D'après lui, les éléments chromatophiles s'amassent autour du noyau en même temps que l'on constate leur diminution en nombre et en volume.

Toutes ces recherches, dit FLATAU, sont encore trop incomplètes pour qu'elles puissent nous permettre d'en tirer des conclusions générales.

(1) MERING : Cité d'après FLATAU : *Neue experimentelle Arbeiten über die Pathologie der Nerven-zellen*; Fortschritte der Medicin, 1897, p. 286.

(2) ROBERT A. FLEMING : *The effect of « ascending degeneration » on the nerve-cells of the Ganglia*; The Edinburgh medical Journal, March 1897. (Cité d'après FLATAU.)

Nous avons alors repris, avec un de nos élèves, M. NELIS, d'une manière méthodique et suivie, l'étude des altérations qui surviennent dans les cellules des ganglions spinaux à la suite de la lésion du nerf périphérique.

Nous avons opéré sur le lapin et nous avons choisi, comme ganglion d'étude, le ganglion plexiforme du pneumogastrique. Sur tous les lapins qui avaient subi la section du nerf hypoglosse pour l'étude des modifications cellulaires consécutives à la section d'un nerf moteur, nous avons sectionné également le nerf pneumo-gastrique et le nerf sympathique du côté correspondant. Sur tous les lapins qui avaient subi la ligature pendant une minute du nerf de la douzième paire, nous avons ligaturé, également pendant une minute, le cordon intermédiaire du sympathique et le nerf pneumo-gastrique vers la partie moyenne de la région cervicale. Nous disposons ainsi d'une série de ganglions enlevés à l'animal 24, 32 et 40 heures, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 15, 20, 36, 52, 53 et 92 jours après la section du nerf et une autre série, plus nombreuse même, de ganglions dont le nerf périphérique avait été ligaturé. Les résultats de ces recherches seront publiés sous peu en détail. Les conclusions auxquelles nous sommes arrivés peuvent se résumer comme il suit.

Après la section du nerf vague dans la région cervicale, à environ deux centimètres en dessous de l'extrémité inférieure de ce ganglion, les cellules présentent des troubles manifestes 32 heures et même 24 heures après la lésion.

Ces troubles consistent dans une dissolution des éléments chromatophiles qui nous a toujours paru débiter au sein même du corps cellulaire. Cette chromatolyse progresse rapidement du centre vers la périphérie et, déjà 4 ou 5 jours après la section, les cellules lésées se présentent comme des vésicules claires, teintées uniformément en bleu par la couleur d'aniline, avec un bord périphérique de granulations chromophiles plus ou moins distinctes. Cette dissolution de la substance chromatique est accompagnée d'une augmentation de volume du corps cellulaire et de la propulsion du noyau vers la périphérie.

Ces phénomènes de chromatolyse s'accroissent de plus en plus pour atteindre leur maximum environ 15 jours après la section.

Pendant les premières phases qui suivent la section, phase que nous avons appelée *phase de dissolution des éléments chromatophiles*, les cellules des ganglions spinaux se comportent donc comme les cellules motrices. Mais à partir du quinzième jour environ la marche des phénomènes change. Les cellules motrices, à part peut-être un petit nombre, entrent alors dans

la *phase de reconstitution des éléments chromatophiles*. Pour les cellules des ganglions spinaux, il n'en est pas ainsi. A la phase de dissolution de la partie chromatique fait suite une *phase de destruction ou de dégénérescence*; de telle sorte que toutes les cellules profondément lésées sont destinées à disparaître. Les recherches que nous avons faites avec M. NELIS confirment donc, sur ce point, les observations de LUGARO. Rien n'est plus démonstratif à cet égard que de comparer la coupe d'un ganglion plexiforme normal avec la coupe d'un ganglion provenant d'un animal qui a été tué 92 jours après la section du nerf vague. Dans le ganglion normal, les cellules sont nombreuses, serrées les unes contre les autres, et le tissu conjonctif interposé est peu abondant; dans le ganglion sectionné au contraire, les choses sont renversées; ici on constate de larges travées de tissu conjonctif séparant un petit nombre de cellules intactes.

Il existe donc une différence profonde entre la manière dont une cellule motrice de la corne antérieure de la moelle et une cellule d'un ganglion spinal réagissent à la section de leur prolongement périphérique.

La cellule motrice réagit par la dissolution de sa substance chromatique. Ce trouble cellulaire dure environ 15 jours, puis tout rentre insensiblement dans l'ordre et la cellule non seulement reconstitue la substance chromatique qu'elle a perdue, mais encore s'en charge tellement qu'elle présente pendant plus de soixante-dix jours un véritable état pyknomorphe.

La cellule sensitive réagit aussi par la dissolution de sa substance chromatique. Ce trouble cellulaire est même plus précoce que dans la cellule motrice. Il augmente insensiblement jusqu'au quinzième jour après la section. Cette cellule parcourt donc, comme la cellule motrice, et même plus rapidement que cette dernière, la phase de dissolution des éléments chromatophiles. Mais alors, au lieu de réorganiser sa partie chromatique utilisée, elle se désorganise et disparaît.

A quoi devons-nous attribuer cette différence profonde dans le mode de réaction d'une cellule motrice de la corne antérieure et d'une cellule des ganglions spinaux à la lésion de leur prolongement périphérique?

Nous abordons ici un des problèmes les plus importants de la physiologie et de la pathologie des neurones.

Nous avons vu plus haut que LUGARO a constaté une différence fondamentale entre la manière dont une cellule des ganglions spinaux réagit à la section de son prolongement périphérique et à la section de son prolongement central.

L'interruption complète du prolongement périphérique amène, à bref délai, la destruction de la cellule nerveuse; au contraire, l'interruption du prolongement central n'est suivi que d'une légère chromatolyse sans gonflement du corps cellulaire, sans déplacement du noyau, chromatolyse qui disparaît bientôt sans laisser de trace.

LUGARO s'est demandé à quoi était due cette différence profonde dans la manière de réagir d'une cellule des ganglions spinaux à la suite de la section de son prolongement périphérique et de son prolongement central.

La première idée qui se présente naturellement à l'esprit, dit-il, c'est que cette différence est en rapport avec la différence de fonction de ces deux prolongements. Le prolongement périphérique recueille les excitations du dehors et les transmet à la cellule nerveuse, tandis que le prolongement central transmet aux masses grises de la moelle et du bulbe les impressions élaborées dans la cellule elle-même. On peut penser, dit-il, que la cellule, privée des excitations externes qui lui affluent d'une manière continue et condamnée ainsi à une complète inaction par suite de la section de son prolongement périphérique, peut s'altérer et dégénérer, tandis que séparée simplement des centres nerveux par suite de l'interruption de son prolongement central, elle perd bien, il est vrai, sa fonction dans le système de la collectivité nerveuse, mais elle continue à vivre, parce qu'elle continue à recevoir les excitations auxquelles elle est habituée. Cette supposition s'harmoniserait très bien, dit LUGARO, avec la doctrine que MARINESCO a introduite dans la science et qui a été acceptée et élargie par GOLDSCHIEDER, doctrine suivant laquelle les excitations physiologiques habituelles d'une cellule nerveuse exercent sur cette cellule nerveuse et sur toutes les parties qui en dépendent, une véritable action trophique indispensable à la conservation de l'intégrité anatomique et fonctionnelle du neurone.

Mais LUGARO rejette cette explication. Les cellules de la corne antérieure de la moelle, dit-il, subissent, elles aussi, à la suite de la section du nerf périphérique, le même processus de dégénérescence que les cellules des ganglions spinaux. C'est là, pour LUGARO, un fait établi avec une entière certitude (un fatto ormai stabilito con ogni sicurezza). Et cependant, ces cellules se trouvent dans des conditions tout à fait opposées à celles qui existent pour les cellules des ganglions spinaux : les cellules motrices, en effet, après la section de leur cylindre-axe, ne peuvent plus exercer leur activité normale, mais elles ne sont nullement soustraites aux excitations qui leur viennent d'une façon continue, directement ou indirectement, soit

par les fibres des voies réflexes, soit par les fibres de la voie pyramidale. Si, malgré tout cela, ces cellules se détruisent, dit LUGARO, c'est que les excitations habituelles qui leur sont transmises n'interviennent pour rien dans la conservation de leur état normal.

LUGARO se montre plus disposé à admettre l'opinion de v. LENHOSSEK, d'après laquelle les cellules motrices dégénèrent à la suite de la section de leur cylindre-axe, parce que ces cellules se trouvent dans l'impossibilité de décharger les excitations qu'elles reçoivent. Mais cette hypothèse laisse encore un point obscur; la cellule des ganglions spinaux ne s'altère pas après la section de son prolongement à conduction cellulifuge et cependant, comme la cellule motrice, elle se trouve alors dans l'impossibilité de décharger les excitations qui lui sont transmises.

Pour expliquer les faits observés, LUGARO admet que la suppression des excitations physiologiques (section du prolongement périphérique des cellules des ganglions spinaux) et l'impossibilité pour une cellule nerveuse de mettre en liberté les excitations qui lui sont transmises (section de l'axone d'une cellule motrice et section du prolongement central d'une cellule des ganglions spinaux) peuvent amener l'altération et la dégénérescence de l'élément correspondant. Si les cellules motrices et les cellules des ganglions spinaux, placées dans les mêmes conditions, se comportent différemment, il faut en conclure, d'après LUGARO, que les différents éléments du système nerveux peuvent opposer aux causes perturbatrices une résistance variable, que l'élément sensitif se ressent plus spécialement de la suppression des excitations externes; que l'élément moteur, au contraire, se ressent davantage de l'obstacle qui lui est fait à la décharge de l'énergie élaborée.

Mais cette explication de LUGARO n'en est pas une.

Pour arriver à cette conclusion, le savant italien, acceptant les affirmations de FOREL, NISSL, v. LENHOSSEK, FLATAU et les conclusions des premiers travaux de MARINESCO, est parti d'un point de départ qui est faux: la section d'un nerf moteur périphérique n'entraîne pas du tout la dégénérescence et la destruction des cellules d'origine de ce nerf. Bien au contraire, il résulte des recherches que nous avons exposées plus haut, que ces cellules d'origine ne présentent que la phase de dissolution des éléments chromatophiles, bientôt suivie de la phase de reconstitution des mêmes éléments, et que, si quelques-unes de ces cellules se détruisent en réalité, cela n'est pas dû à la section de leur prolongement cylindraxile, ni à l'impossibilité dans laquelle se trouvent ces cellules nerveuses de procéder à la décharge de

l'influx nerveux, mais bien à un phénomène purement accidentel : à la dislocation exagérée du noyau à la suite de la turgescence brusque du corps protoplasmique. Ce qui prouve d'ailleurs bien que les cellules d'origine d'un nerf moteur sectionné ne dégèrent pas, ce sont les recherches expérimentales faites entre autres par VANLAIR. Ces recherches montrent que le nerf sectionné peut se régénérer dans sa totalité, si on le met dans certaines conditions qui favorisent ce travail de régénération. Ce sont encore les observations cliniques incontestables qui ont prouvé que l'avivement et la suture consécutive des deux bouts d'un nerf sectionné chez l'homme peut encore amener la reconstitution de ce nerf, même si la section pathologique a persisté pendant plusieurs mois.

Cette régénération du nerf serait absolument impossible si les cellules d'origine des fibres constitutives de ce nerf avaient été envahies par la dégénérescence.

Nous nous trouvons donc devant ces deux faits qui nous paraissent bien établis :

1^o La section du prolongement périphérique d'une cellule motrice de la moelle est suivie de la dissolution des éléments chromatophiles pendant les premiers jours qui suivent la section; la cellule nerveuse se conserve, elle régénère bientôt les éléments chromatiques utilisés.

2^o La section du prolongement périphérique d'une cellule des ganglions spinaux est suivie également, pendant les premiers jours qui suivent la lésion, de la dissolution des éléments chromatophiles; mais cette cellule ne se conserve pas, elle n'est plus en état de reformer les éléments chromatophiles utilisés, elle dégère et elle disparaît.

La seule cause possible de la manière profondément différente dont ces deux espèces de cellules nerveuses répondent à la section de leur prolongement périphérique, nous devons la chercher dans l'intervention de l'action trophique exercée sur ces cellules par les excitations qui leur sont transmises. Si la cellule motrice se régénère, c'est qu'elle reste sous l'influence de l'action trophique qu'exercent sur elles les ramifications cylindraxiles des cellules nerveuses avec lesquelles elle est en contact.

Si la cellule des ganglions spinaux dégère et disparaît, c'est que, à la fin de la phase de dissolution de la substance chromatique, au moment où cette cellule devrait entrer dans la période de réparation, l'action trophique qu'exercent sur elle les excitations du dehors lui fait défaut.

La cellule d'origine d'un neurone moteur périphérique présente donc

de la chromatolyse, parce que la section de son prolongement cylindraxile constitue pour elle une mutilation grave qu'elle tâchera de réparer. Ce travail de réparation pourra s'effectuer, parce que cette cellule reste sous l'influence qu'exercent sur elle les neurones avec lesquels elle entre en contact.

La cellule d'origine d'un neurone sensible périphérique présente également de la chromatolyse à la suite de la section de son prolongement périphérique, parce que cette section constitue pour elle une mutilation grave. Mais le travail de réparation est devenu impossible pour elle, parce que, à côté de la mutilation que ce neurone a subie, il se trouve encore privé de l'action trophique qu'exerçaient sur lui les excitations du dehors. Ce qui prouve d'ailleurs que tel est bien le véritable mécanisme des troubles cellulaires si différents que nous présentent les cellules motrices et les cellules des ganglions spinaux à la suite de la section du nerf périphérique, ce sont les observations de LUGARO sur les troubles cellulaires consécutifs à la section des racines postérieures.

La section du prolongement interne des cellules des ganglions spinaux met ces cellules dans la même situation anatomique et fonctionnelle que celle qui est faite aux cellules motrices après la section du nerf périphérique. Dans les deux cas, les cellules présentent de la chromatolyse; mais ces cellules se conservent et redeviennent normales, parce qu'elles restent sous l'influence de l'action trophique qu'exercent sur elles soit les fibres centrales, soit les fibres périphériques.

La chromatolyse semble cependant plus profonde dans les cellules motrices que dans les cellules sensibles : les cellules motrices présentent des troubles profonds, tandis que les cellules des ganglions spinaux présenteraient à peine, d'après les recherches de LUGARO, une légère chromatolyse centrale sans déplacement du noyau. Mais il est évident que, avant de se prononcer, il faudra de nouvelles recherches pour contrôler si véritablement, comme LUGARO l'affirme, la section du prolongement interne des cellules des ganglions spinaux, n'est suivie que de la chromatolyse légère dont parle l'auteur italien. Nous avons entrepris ces expériences en sectionnant le nerf pneumo-gastrique du lapin, au-dessus du ganglion plexiforme. Le temps nous a fait défaut pour en recueillir les résultats.

Cette action trophique, que les excitations qui arrivent habituellement à une cellule nerveuse exercent sur cette dernière, n'est pas seulement indispensable pour qu'une cellule lésée puisse faire face aux troubles cellulaires que la lésion y détermine; elle est encore indispensable pour qu'un neu-

rone entièrement intact puisse conserver son intégrité anatomique et fonctionnelle.

Nous savons tous que, quand on sectionne un nerf moteur périphérique, les muscles innervés par ce nerf s'atrophient et disparaissent. Nous en concluons que, pour qu'un muscle conserve son intégrité, il faut qu'il soit en relation avec la cellule d'origine de sa fibre nerveuse et nous admettons que cette cellule nerveuse exerce sur ce muscle une action spéciale que nous désignons sous le nom *d'action trophique*.

Eh bien! cette action trophique, que les cellules de la corne antérieure de la moelle exercent sur le muscle périphérique, s'exerce aussi d'une cellule nerveuse à l'autre. Nous en trouvons la preuve dans le fait suivant.

Dans les expériences qui ont servi de base au présent travail, nous avons sectionné, sur un grand nombre de lapins, le nerf pneumo-gastrique droit dans la région cervicale. Ainsi que MARINESCO l'a signalé le premier⁽¹⁾, la section de ce nerf amène des troubles manifestes, non seulement dans le noyau ambigu que l'on considère comme le noyau d'origine des fibres motrices, mais encore dans le noyau dorsal du pneumo-gastrique généralement considéré comme noyau sensitif.

Déjà après six jours, dit MARINESCO, on peut constater, dans le noyau dorsal du pneumo-gastrique, des lésions de réaction à distance, qui consistent dans la désintégration des éléments chromatophiles et la migration du noyau vers la périphérie. Ces lésions, qui apparaissent plus tard également dans le *nucleus ambiguus*, sont discrètes et gagnent la plupart des cellules du noyau dorsal du pneumo-gastrique au bout de quinze jours. Il m'a semblé qu'après la section du vague, c'est le noyau dorsal qui réagit en première ligne. Donc les lésions de ce noyau sont précoces. Quelle est l'interprétation de cette constatation anatomique facile à vérifier pour tout le monde? La réaction du *nucleus ambiguus* est en conformité avec nos connaissances actuelles. Il s'agit là d'un neurone moteur qui constitue, ainsi que j'espère pouvoir le montrer dans une communication prochaine, la source de l'innervation des muscles du larynx. Mais pourquoi le noyau dorsal du pneumo-gastrique réagit-il? S'il était, en réalité, constitué uniquement par des neurones sensitifs indirects, on se demanderait quelle est la cause de cette réaction précoce. En effet, nous ne connaissons pas actuellement de lésions neurales secondaires (sensitif ou moteur) développées en quelques jours.

(1) MARINESCO : *Les noyaux musculo-striés et musculo-lisses du pneumo-gastrique*; Comptes rendus de la Soc. de Biologie, 13 février 1897.

Mes recherches m'ont prouvé et, à ce point de vue, elles confirment celles de NISSL, que ces lésions neurales secondaires sont tardives. Je suis donc obligé d'admettre que le noyau dorsal du pneumo-gastrique ne constitue pas une agglomération de neurones sensitifs indirects; je pense au contraire qu'il s'agit là d'un neurone moteur. Quelle est la nature de ce neurone moteur? Je dois faire remarquer, à ce propos, que le type de ces cellules n'est pas celui des cellules du *nucleus ambiguus* ou de l'hypoglosse; aussi j'admets que le noyau dorsal du pneumo-gastrique constitue un noyau moteur des muscles lisses innervés par le pneumo-gastrique et pour cela, je propose de lui donner le nom de noyau musculo-lisse, en opposition avec le *nucleus ambiguus* que j'appelle le noyau musculo-strié du pneumo-gastrique -.

Ces modifications du noyau dorsal du pneumo-gastrique s'observent avec la plus grande facilité chez le lapin. Leur début est beaucoup plus précoce que MARINESCO ne le signale chez le chien et le chat; déjà au commencement du troisième jour, les cellules sont atteintes par une chromatolyse énergique, qui entraîne le gonflement de la cellule nerveuse et le déplacement du noyau.

Les observations que nous avons faites sur les cellules constitutives de ce noyau dorsal ne nous permettent cependant pas de partager l'opinion de MARINESCO. Pour nous, ce noyau dorsal est un noyau sensitif; ce qui le prouve, c'est d'abord ce fait que les cellules qui le constituent ne présentent pas le type moteur de NISSL. Ensuite, un fait beaucoup plus important, c'est que ces cellules ne se comportent pas comme les cellules d'un noyau moteur. Nous avons vu que les cellules motrices périphériques commencent à se régénérer 15 à 20 jours après la section de leur prolongement cylindrique. Or, les cellules du noyau dorsal du pneumo-gastrique ne se régénèrent pas du tout; elles se comportent comme les cellules du ganglion plexiforme, elles dégèrent et elles disparaissent. C'est ce que l'on voit manifestement sur des coupes du bulbe provenant de lapins tués 40, 50 ou 60 jours après la section. Vis-à-vis du noyau dorsal du côté sain, formé par un grand nombre de cellules nerveuses, on trouve le noyau dorsal du côté lésé réduit à quelques cellules éparses.

Ce qui empêche MARINESCO de considérer ce noyau dorsal comme un noyau sensitif, c'est la rapidité avec laquelle les lésions neurales secondaires, comme il les appelle, s'y développent. Pour avoir tout notre apaisement à cet égard, nous avons pratiqué, sur cinq lapins, la section intracrânienne du nerf acoustique à son entrée dans le conduit auditif interne. Trois de

ces lapins n'ont survécu que quelques heures; le quatrième a survécu 3 jours et le cinquième 3 jours et 10 heures. Tous ont présenté, pendant tout le temps qu'ils ont survécu à la section du nerf acoustique, depuis le moment où on les enlevait de la table d'opération jusqu'au moment de leur mort et chaque fois qu'on les déplaçait dans leur cage, un mouvement particulier de rotation autour de l'axe longitudinal du corps, mouvement qui s'effectuait de droite à gauche quand on avait sectionné le nerf gauche et qui s'effectuait de gauche à droite après la section du nerf acoustique du côté droit.

Les sections faites dans l'axe nerveux, au niveau de l'entrée des fibres du nerf acoustique, ont montré que toutes les cellules du noyau terminal de ce nerf étaient en chromatolyse. On observait même en chromatolyse quelques-unes des cellules volumineuses de la formation réticulaire qui appartiennent manifestement au type moteur de NISSL.

La section d'un nerf sensible périphérique ne retentit donc pas seulement sur les cellules d'origine de ce nerf, elle retentit également sur la constitution de la cellule du second neurone avec laquelle les fibres du nerf périphérique arrivent en contact, preuve indiscutable, nous semble-t-il, que les neurones superposés exercent l'un sur l'autre une action trophique indispensable à la conservation de leur intégrité anatomique et fonctionnelle, absolument comme les cellules de la corne antérieure de la moelle exercent une action trophique sur les muscles périphériques.

CHAPITRE IV.

Modifications consécutives aux troubles circulatoires et aux intoxications.

Il nous reste encore à parler des modifications qui surviennent dans les cellules nerveuses à la suite de troubles circulatoires et dans les intoxications.

Ces modifications cellulaires sont généralement regardées comme des *lésions primitives*, puisque l'agent nocif agit ici directement sur le protoplasme cellulaire lui-même, par opposition aux troubles cellulaires que nous avons décrits dans le chapitre précédent et qui ne sont que des *lésions secondaires*, directes ou indirectes suivant qu'elles font suite à la lésion d'une partie constituante du neurone lui-même (section ou ligature de l'axone) ou suivant qu'elles ne sont que la conséquence de l'altération d'un neurone voisin (suspension de l'action trophique que ce neurone lésé exerce sur la cellule avec laquelle il arrive en contact).

Le temps nous a fait défaut pour consacrer à cette question importante toute l'attention qu'elle mérite. Nous n'avons d'ailleurs aucune observation personnelle à faire valoir en faveur de l'une ou de l'autre des idées qui ont été émises. Nous devons donc nous contenter de faire le relevé plus ou moins exact des travaux publiés et tâcher de résumer en quelques lignes les conclusions qui ont été formulées.

SARBO (1) MARINESCO (2) et JULIUSBURGER (3) ont étudié les lésions cellulaires consécutives à la ligature de l'aorte abdominale; LAMY (4) a poursuivi celles qui suivent les embolies expérimentales déterminées par l'injection intravasculaire de poudre de lycopode.

(1) SARBO : *Ueber die Rückenmarksveränderungen nach Verschlussung der Bauchaaorte*; Neurol. Centralbl., 1895, pp. 664-669.

(2) MARINESCO : *Lésions de la moelle épinière consécutives à la ligature de l'aorte abdominale*; Comptes rendus de la société de Biologie, 23 février 1896. — *Des polyneurrites en rapport avec les lésions secondaires et les lésions primitives des cellules nerveuses*; Revue neurologique, n° 5, 1896.

(3) JULIUSBURGER : *Bemerkungen zur Pathologie der Ganglienzellen*; Neurolog. Centralbl., 1896, pp. 386-395

(4) LAMY : Archives de physiologie, 1897.

Ces auteurs ont observé, pendant les premières heures qui suivent la ligature, la disparition des éléments chromatophiles bientôt suivie de la désagrégation du protoplasme cellulaire et de la destruction de la cellule nerveuse. SARBO ne signale rien de spécial pour le phénomène de chromatolyse. MARINESCO a observé que cette dissolution des éléments chromatophiles commence dans un certain nombre de cellules à la périphérie - pour envahir insensiblement les éléments chromatophiles des couches les plus profondes. Cette chromatolyse serait accompagnée d'un œdème de la cellule nerveuse entraînant et le gonflement du corps cellulaire et la dissolution de la substance chromatique.

JULIUSBURGER, au contraire, a vu la chromatolyse débiter dans le voisinage du noyau et, de là, envahir les couches périphériques.

Pour LAMY, la chromatolyse débute dans les couches périphériques du protoplasme cellulaire et envahit insensiblement les parties centrales. Cet auteur signale aussi le déplacement du noyau vers la périphérie, fait que MARINESCO considère comme tout à fait accidentel.

Les troubles cellulaires consécutifs aux empoisonnements ont été étudiés par un grand nombre d'auteurs et avec les poisons les plus divers : empoisonnement par l'arsenic et par le plomb [NISSL (1), SCHAFER (2), LUGARO (3), MARINESCO (4)]; par le phosphore [NISSL (1), SARBO (5)]; par l'antimoine [SCHAFER (2)]; par le mercure [DOTTO (6)]; par l'argent [NISSL (7)]; par l'alcool [VAS (8), DETRIO (9), BERKLEY (10),

(1) NISSL : *Ueber experimentell erzeugte Veränderungen an den Vorderhornzellen des Rückenmarks bei Kaninchen*; Allg. Zeitschr. f. Psych., 1892, Bd. 48, pp. 675-682.

(2) SCHAFER : *Ueber die Veränderungen der Nervenzellen beim experimentellen Blei-, Arsen- und Antimonvergiftung*; Ungarisches Arch. f. Med., Bd. II, 1893.

(3) LUGARO : *Sulle alterazioni degli elementi nervosi negli avvelenamenti per arsenico e per piombo*; Rivista di patologia nervosa e mentale, 1897, pp. 49-64.

(4) MARINESCO : *Nouvelles recherches sur la structure fine de la cellule nerveuse et sur les lésions produites par certaines intoxications*; La Presse médicale, 16 juin 1897.

(5) SARBO : *Ueber die normale Structur der Ganglienzellen des Kaninchenrückenmarkes und über deren pathologische Veränderungen bei Vergiftungen mit Phosphor und Morphium*; Ungar. Arch. f. Medicin, 1892.

(6) DOTTO : *Sulle alterazioni del sistema nervoso dell'avvelenamento cronico per bichloruro di mercurio*; Il Pisani, 1896 (cité d'après LUGARO).

(7) NISSL : Cité d'après FLATAU.

(8) VAS : *Zur Kenntniss der chronischen Nicotin- und Alcoolvergiftung*; Arch. f. experim. Pathol. und Pharm., Bd. XXXIII.

(9) DETRIO : *Experimentelle Untersuchungen über die Veränderungen der Ganglienzellen bei der acuten Alcoolvergiftung*; Centralbl. f. Nervenheilk. und Psych., 1895.

(10) BERKLEY : *Lesions produced by the action of ethyl-alcohol on the cortical nerve cell*; American Journal of Insanity, 1895. — *Lesions of the cortical tissue induced by acute experimental alcoholic poisoning*; Journal of nervous and mental disease, 1896.

NISSL, TRÖMMER (1), MARINESCO]; par la morphine [SARBO]; par le bromure, la cocaïne, l'antipyrine [PANDI (2)]; par la nicotine [PANDI (2), VAS]; par l'ergotine et la quinine [DOTTO (3)]; par le trional [TRÖMMER (1), NISSL]; par la vératrine et la strychnine [NISSL].

GOLDSCHIEDER et FLATAU (4) ont recherché les modifications cellulaires consécutives à l'empoisonnement par le nitrile malonique et le mode de reconstitution de ces cellules nerveuses à la suite de l'administration d'hyposulfite de soude, qui, d'après les recherches intéressantes de HEYMANS et MASOIN, combat et fait disparaître les troubles déterminés par le nitrile malonique. Ils ont recherché également les modifications cellulaires déterminées par une élévation artificielle de la température du corps.

BECK (5) a étudié les altérations cellulaires consécutives à l'infection par le bacille du tétanos.

MARINESCO a fait des recherches sur les modifications cellulaires qui surviennent dans les cellules de la moelle épinière, à la suite de l'empoisonnement par la toxine du tétanos, les troubles cellulaires déterminés par la rage et par l'infection avec le *Bacillus botulinus* (VAN ERMENGEM).

ACQUISITO et PUSATERI (6) ont recherché, par des expériences faites sur le chien, à établir les lésions cellulaires consécutives à l'urémie.

Ce qui se dégage de toutes ces recherches expérimentales, c'est ce fait important que, quelle que soit la lésion qui retentit sur une cellule nerveuse somatochrome, celle-ci commence toujours par répondre de la même façon : par la dissolution de ses éléments chromatophiles. Tant que ce trouble cellulaire ne dépasse pas cette limite, il est réparable et la cellule peut revenir à l'état normal. C'est seulement quand la lésion cellulaire est plus profonde, quand elle intéresse à la fois les éléments chromatophiles et le réseau protoplasmique que la cellule dégénère et disparaît.

Cette dissolution des éléments chromatophiles se présente toujours avec

(1) TRÖMMER : *Pathologische Veränderungen an Nervenzellen und ihre mikrophotographische Darstellung*; Allg. Zeitschr. f. Psych., Bd. 52, 1896, pp. 1144-1146.

(2) PANDI : *Ueber die Veränderungen des Centralnervensystems nach chronischer Vergiftung mit Brom, Kokain, Nikotin und Antipyrin*; Ungarisches Arch. f. Med., 1896.

(3) DOTTO : *Sulle alterazioni degli elementi nervosi nell'avvelenamento subacuto per chinina ed ergotina*; Il Pisani, 1896 (cite d'après LUGARO).

(4) GOLDSCHIEDER et FLATAU : *Beiträge zur Pathologie der Nervenzellen*; Fortschritte der Medizin, 1897, n° 6.

(5) BECK : *Die Veränderungen der Nervenzellen beim experimentellen Tetanus*; Neurolog. Centralbl., 1894, n° 24.

(6) ACQUISITO et PUSATERI : *Sull'anatomia nervosa degli elementi nervosi nell'uremia acuta sperimentale*; Rivista di patologia nervosa e mentale, 1896.

les mêmes caractères dans les *lésions secondaires* des cellules nerveuses. Elle semble cependant revêtir des caractères particuliers dans les diverses *lésions primitives* des cellules nerveuses; au point que des auteurs compétents, tels que NISSL et MARINESCO, sont enclins à admettre une telle variabilité dans le mode de réagir d'une cellule nerveuse vis-à-vis des divers poisons et une telle constance dans la façon dont cette même cellule nerveuse répond à une lésion donnée, qu'ils croient que, entre la lésion et la réaction cellulaire, il existe un rapport tellement étroit que l'on arrivera un jour à pouvoir conclure du poison administré à un animal aux troubles cellulaires que l'on y rencontrera et, ce qui est beaucoup plus important, des troubles cellulaires observés au microscope à la nature du poison qui les a déterminés.

Ce qui nous paraît établi, dans l'état actuel de la science, surtout par les recherches de LUGARO et de MARINESCO, c'est que, dans les *lésions primitives* de la cellule nerveuse, la chromatolyse débute généralement dans les couches périphériques du protoplasme cellulaire pour envahir, de là, les couches profondes. Dans les *lésions secondaires*, au contraire, la chromatolyse s'étend des couches profondes vers les couches superficielles.

Cette règle n'a cependant rien d'absolu et, pour notre part, nous avons rencontré de temps en temps, dans le noyau d'origine d'un nerf sectionné, aussi bien pour les cellules motrices que pour les cellules des ganglions spinaux, des cellules présentant nettement de la chromatolyse périphérique.

Le fait important qui se dégage de ce trop long rapport et sur lequel nous voudrions appeler tout particulièrement votre attention est le suivant.

La dissolution des éléments chromatophiles dans le protoplasme d'une cellule nerveuse surgit chaque fois que cette cellule se trouve lésée soit dans son intégrité anatomique soit dans son intégrité fonctionnelle.

Cette chromatolyse, pour autant qu'elle reste dans certaines limites et pour autant surtout qu'elle ne se produise pas d'une façon trop brusque, ne nous paraît pas être un trouble cellulaire bien profond. Il reste aux recherches à venir à établir si la chromatolyse d'une cellule nerveuse est compatible avec son fonctionnement normal.

EXPLICATION DES FIGURES.

FIG. 1. (Gross. : ZEISS, Imm. hom. 2 mm., oc. 4.) Trois types de cellules motrices :

a, cellule motrice chargée d'éléments chromatophiles séparés les uns des autres par de minces trainées de substance achromatique.

b, cellule motrice moins riche en éléments chromatophiles; aux endroits dépourvus de blocs chromatiques, on voit que la substance achromatique est parsemée de fines granulations quelque peu sensibles aux couleurs d'aniline.

c, cellule motrice peu riche en éléments chromatophiles; la substance achromatique présente une structure nettement réticulée.

FIG. 2. (Gross. : ZEISS, A, II.) Coupe transversale du bulbe d'un lapin ayant survécu sept jours à la section du nerf hypoglosse et du nerf pneumo-gastrique gauches. Les cellules du noyau d'origine du nerf hypoglosse sectionné (A) et les cellules du noyau dorsal du pneumo-gastrique (B) sectionné sont en chromatolyse.

FIG. 3. (Gross. : ZEISS, Imm. hom. 2 mm., oc. 4.) Cellules normales du noyau de l'hypoglosse.

FIG. 4. (Gross. : ZEISS, Imm. hom. 2 mm., oc. 4.) Cellules du noyau du nerf hypoglosse six jours après la section.

FIG. 5. (Gross. : ZEISS, Imm. hom. 2 mm., oc. 4.) Cellules du noyau du nerf hypoglosse quinze jours après la section.

FIG. 6. (Gross. : ZEISS, Imm. hom. 2 mm., oc. 4.) Cellules normales du noyau dorsal du nerf pneumo-gastrique.

FIG. 7. (Gross. : ZEISS, Imm. hom. 2 mm., oc. 4.) Cellules du noyau dorsal six jours après la section du nerf en dessous du ganglion plexiforme.

FIG. 8. (Gross. : ZEISS, Imm. hom. 2 mm., oc. 4.) Cellules du noyau dorsal quinze jours après la section du nerf en dessous du ganglion plexiforme.

FIG. 9. (Gross. : ZEISS, Imm. hom. 2 mm., oc. 4.) Cellules du noyau d'origine du nerf hypoglosse 36 jours après la section.

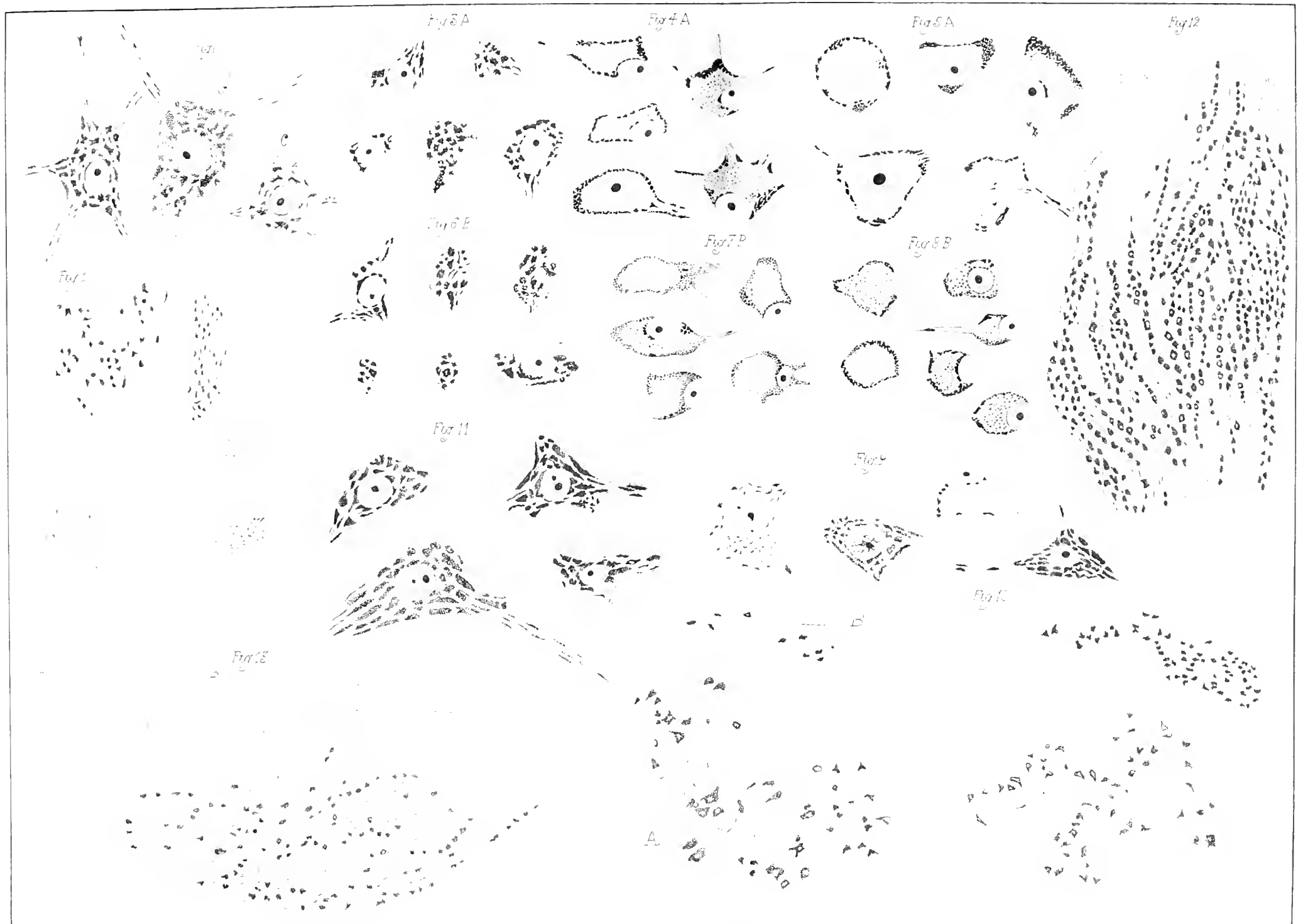
FIG. 10. (Gross. : ZEISS, A, II.) Coupe transversale du bulbe d'un lapin tué 52 jours après la section du nerf hypoglosse et du nerf pneumo-gastrique droits. Les cellules du noyau d'origine du nerf hypoglosse (A) sont toutes à l'état pyknomorphe. Le noyau dorsal du pneumo-gastrique sectionné (B) se trouve réduit à quelques cellules éparses.

FIG. 11. (Gross. : ZEISS, Imm. hom. 2 mm., oc. 4.) Quelques cellules du noyau d'origine du nerf hypoglosse d'un lapin tué 52 jours après la section. Toutes ces cellules sont dans l'état pyknomorphe.

FIG. 12. Coupe longitudinale d'un ganglion plexiforme normal de lapin.

FIG. 13. Coupe longitudinale du ganglion plexiforme d'un lapin tué 92 jours après la section du nerf.

De la comparaison des deux dernières figures il ressort en toute évidence que la section du nerf périphérique est suivie de la disparition complète d'un grand nombre de cellules du ganglion correspondant.



Nouvelles Recherches

SUR LES

SÉCRÉTIONS GASTRIQUES

PAR

le Dr A. VERHAEGEN

ASSISTANT A LA CLINIQUE MÉDICALE DE LOUVAIN.

(Mémoire déposé le 23 novembre 1897.)

Nouvelles Recherches

SUR LES

SÉCRÉTIONS GASTRIQUES

Les recherches de ces dernières années sur la nature et le mécanisme intime de la sécrétion gastrique ont établi ou élucidé certaines lois de cette sécrétion : en particulier l'influence du système nerveux central et du grand sympathique sur l'activité des glandes, l'action spéciale des différents aliments sur la sécrétion, les différences qualitatives dans le suc élaboré par les différentes parties de l'estomac.

D'après les recherches de PAWLOW et M^{me} SCHUMOW-SIMANOWSKY (1), la sécrétion acide de l'estomac est sous la dépendance du système nerveux central par l'intermédiaire du nerf pneumo-gastrique : - Des excitations psychiques et un réflexe partant de la cavité buccale ont toujours pour effet - une abondante sécrétion de suc gastrique pur ; la section des nerfs splanchniques n'a aucune influence sur cette sécrétion réflexe ; celle-ci disparaît - tout à fait et sans retour après la section des pneumo-gastriques. - Les auteurs pensent qu'il existe dans le nerf vague des fibres sécrétoires pour les glandes de l'estomac, parce que le réflexe en question produit la sécrétion non seulement de l'eau, mais des ingrédients spécifiques du suc gastrique : l'acide chlorhydrique et la pepsine.

SANOTSKY (2) confirme les conclusions de PAWLOW relativement à l'influence psychique et au réflexe buccal. Il démontre que - ce n'est pas une - irritation purement mécanique de l'arrière-bouche qui produit la sécrétion - réflexe, mais l'influence psychique qu'éveille l'idée de manger ; ni les irritations mécaniques de la muqueuse buccale, ni les irritations du goût, ni - la mastication, ni la déglutition ne peuvent par elles-mêmes provoquer - la sécrétion du suc gastrique. Dans le phénomène de la sécrétion du suc

(1) PAWLOW et SCHUMOW-SIMANOWSKY : *Du Bois Reymond's Archiv*, 1895.

(2) SANOTSKY : *Archives des sciences biologiques de St. Petersbourg*, 1892.

« gastrique après le repas fictif (c'est-à-dire le passage des aliments par la
 « cavité buccale et le pharynx chez un animal œsophagotomisé), le point
 « principal est chez un animal affamé la vive représentation qu'il se fait
 « des aliments et de l'acte de manger. » SANOTSKY répète les expériences de
 HEIDENHAIN (1), qui avait été conduit à considérer comme primum movens
 de la sécrétion gastrique la résorption dans l'estomac de l'eau et des autres
 produits ingérés, et il conclut : « Il existe deux mécanismes distincts qui
 « déterminent la sécrétion du suc gastrique. L'impulsion, ainsi que les pro-
 « duits d'activité de ces mécanismes, diffère essentiellement. Le mécanisme
 « qui renferme le pneumo-gastrique est stimulé par un procès psychique
 « particulier et a pour effet la formation d'un produit excessivement actif
 « au point de vue de la digestion. L'autre mécanisme nerveux aussi et dans
 « lequel entre probablement le nerf sympathique est stimulé par le phéno-
 « mène de la résorption dans l'estomac et conduit à la formation d'un suc
 « doué d'un très faible pouvoir digestif. »

Quant à l'excitabilité spécifique de la muqueuse gastrique, les données que nous possédons à ce sujet sont peu nombreuses et toutes récentes.

ROSENHEIM (2), après un repas de 50 gr. de pain blanc + 150 gr. d'eau chaude, voit l'acide chlorhydrique apparaître très rapidement et en quantité notable. Si, à la place du pain blanc, il donne sa teneur en amidon et en sucre comme tels, soit 25 gr. d'amidon et 5 gr. de sucre dans 200 gr. d'eau sous la forme d'empois, l'acide chlorhydrique apparaît plus tard et en quantité moindre qu'après le repas d'épreuve. L'auteur en conclut que la nature des ingesta règle le processus sécrétoire.

KHIGINE (3) admet aussi une excitabilité spécifique de la muqueuse gastrique. « La sécrétion gastrique, dit-il, possède la faculté de s'adapter
 « au genre d'aliments ingérés. Cette adaptation s'exprime par ce fait que
 « la marche de l'acte digestif, loin de manifester quelque tendance à un
 « cours banal, montre au contraire une dépendance exacte et constante du
 « genre d'aliments à digérer pour le moment donné. »

VON MEHRING (4), opérant sur des chiens porteurs de fistules duodénales, constate que, lorsqu'il introduit dans l'estomac une solution de sucre, de peptone ou d'alcool, il s'écoule par la fistule plus de liquide qu'il n'en

(1) HEIDENHAIN : *Pflüger's Archiv*, t. XIX, 1879.

(2) ROSENHEIM : *Virchow's Archiv*, t. l. III, 1888.

(3) KHIGINE : *Archives des sciences biologiques de St. Pétersbourg*, 1895

(4) VON MEHRING : *Fortschritte der Medizin*, 1893.

avait introduit. L'estomac, au lieu d'absorber de l'eau, a donc cédé du liquide. Mais sur la nature de ce liquide, sur la présence ou l'absence d'acide chlorhydrique, l'auteur ne donne pas d'indication.

STRAUSS (1) démontre que les solutions concentrées de sucre empêchent la sécrétion chlorhydrique et que l'estomac a le pouvoir de diluer ces solutions concentrées. Au contraire, les matières amylacées donnent une forte sécrétion acide. Il existe donc, conclut l'auteur, une différence marquée dans le produit sécrété suivant qu'on donne les hydrates de carbone sous une forme insoluble ou sous la forme de sucre dissous dans l'eau.

SCHÜLE (2) arrive aux mêmes conclusions : les féculents sous la forme de purée de pommes de terre produisent une sécrétion acide bien marquée; les petites quantités de sucre ne produisent aucune modification dans le processus sécrétoire; les solutions concentrées prolongent la période digestive.

Dans notre travail sur la sécrétion gastrique (3), nous avons établi : 1° *l'existence d'une sécrétion neutre*, indépendante de la sécrétion chlorhydrique; cette sécrétion, qui appartient à la région pylorique, se constate le mieux par la sonde vers la fin de la période digestive lorsque la plus grande partie de la masse alimentaire a quitté le ventricule; elle lutte alors avantageusement avec la sécrétion acide et produit un abaissement marqué et rapide de l'acidité absolue; 2° *l'action élective des différents aliments sur la sécrétion acide de l'estomac*. Sous ce rapport, nous avons distingué trois catégories de substances : les *albumines*, qui constituent les vrais stimulants de la sécrétion acide; la *fécule* qui est inerte et les *sucres* qui exercent une action inhibitive sur la sécrétion chlorhydrique.

Au moment de mettre notre travail sous presse, nous recevons le mémoire de LOBASSOFF (4) de l'école de PAWLOW. L'auteur prouve par d'intéressantes expériences chez le chien qu'il existe une excitabilité sécrétoire spécifique de la muqueuse digestive pour chaque espèce d'aliment. Les viandes, les peptones, l'extrait de viande, le lait, excitent vivement la sécrétion; l'amidon et l'albumine du blanc de l'œuf ne l'excitent pas; les graisses l'empêchent.

L'auteur a, comme nous, cherché en vain à isoler le corps chimique,

(1) STRAUSS : *Zeitschrift für klinische Medicin*, 1895.

(2) SCHÜLE : *Zeitschrift f. klin. Med.*, 1896.

(3) VERHAEGEN : *La Cellule*, 1896.

(4) J. O. LOBASSOFF : *Archives des sciences biologiques de St-Petersbourg*, 1897, tome V, 4 et 5.

qui donne son activité à l'extrait Liebig. Il ne s'est pas occupé du sucre ni de la myosine. Par contre, il a étudié attentivement la sécrétion psychique et la variation des ferments gastriques dans chaque alimentation.

Nous avons cru qu'il n'était pas inutile de vérifier encore chez d'autres sujets nos deux propositions citées plus haut, surtout la seconde, où nous étions, pour un point, l'inactivité de la fécule, en contradiction apparente avec les autres observateurs.

Comme pour notre premier mémoire, nous avons tâché d'expérimenter sur des sujets bien portants. Nous avons mis à contribution trois sujets de 25 à 30 ans, n'ayant jamais souffert de l'estomac; l'acidité du suc gastrique chez tous les trois répond à la moyenne habituelle. L'un est un compagnon de laboratoire (nous le désignerons simplement par le n° III), le second est un jeune homme traité à l'hôpital pour rhumatisme gonococcique léger et qui s'est sondé pour la première fois trois semaines après la guérison complète de son affection; il ne présentait d'ailleurs plus aucune trace de blennorrhagie à son entrée à l'hôpital (ce sera le n° II); le troisième, atteint de sclérose en plaques commençante, n'a pas des antécédents irréprochables. Jusqu'il y a trois ans, il a fait une consommation exagérée de boissons alcooliques. La digestion est ralentie par rapport aux deux autres sujets; mais en dehors de cette particularité, nous n'avons observé chez lui aucun trouble dans le processus digestif. Pendant quatre mois que nous l'avons observé, il a engraisé de quatre kilogrammes (ce sera le n° I). Aucun d'eux n'avait l'estomac dilaté. Il va sans dire que nous n'avons institué des expériences sur nos sujets qu'après les avoir préalablement habitués à la sonde.

MÉTHODE.

Pour ce qui regarde la méthode suivie dans l'analyse du *suc gastrique*, nous renvoyons à notre premier mémoire. Le suc retiré par la sonde est essayé d'abord au papier Congo. Le papier que nous possédons est extrêmement sensible. Il décèle 0,005 p. mille d'acide chlorhydrique libre. Mais il ne révèle pas seulement la présence de cet acide à l'état de liberté; il est sensible à l'acide chlorhydrique combiné, comme nous avons pu le démontrer directement, et aux acides organiques. Ceux-ci le font virer au violet foncé, tandis que l'acide chlorhydrique donne une belle coloration bleu d'azur. Cependant quand les acides organiques sont un peu concentrés,

la différence n'est pas très nette. Aussi l'épreuve positive au papier Congo ne permet-elle pas de conclure rigoureusement à la présence d'acide chlorhydrique libre. Mais l'épreuve négative a plus de valeur. Lorsque le papier Congo ne change pas de couleur, on peut affirmer avec certitude qu'il n'y a pas trace d'acide chlorhydrique libre et on peut se dispenser dès lors d'en faire l'analyse quantitative.

Le liquide filtré, nous dosons l'acidité absolue, puis le chlore sous ses différentes formes : chlore total, chlore libre, chlore combiné, chlore fixe. Comme précédemment, nous nous sommes servi exclusivement de la méthode de WINTER-HAYEM. Nous avons suffisamment justifié notre choix. C'est à notre avis la méthode la plus rigoureuse et la plus recommandable dans les recherches de ce genre. NENCKI et MIZERSKY (1), examinant la valeur des différents procédés en usage pour l'analyse quantitative du chlore dans le suc gastrique, donnent également la préférence à la méthode de WINTER.

CHAPITRE I.

Existence d'une sécrétion diluante.

Comme nous l'avons dit, l'existence de cette sécrétion est démontrée par ce que nous avons appelé la dilution finale. Nous allons donner quelques exemples de dilution recueillis chez chacun de nos sujets.

REMARQUE. Les tableaux sont composés comme dans notre premier mémoire : la première colonne indique le moment du sondage en comptant à partir du commencement du repas ; dans la seconde, nous signalons, s'il y a lieu, les caractères extérieurs du suc ramené par la sonde soit avant, soit après la filtration (surtout la consistance et la couleur) ; la troisième indique la réaction au papier Congo avant la filtration ; la quatrième est réservée à l'acidité absolue ; les autres concernent le dosage du chlore sous ses différentes formes.

(1) NENCKI et MIZERSKY : *Archives des sciences biologiques de St. Pétersbourg*, 1892.

SUJET N° I.

TEMPS	CARACT. EXTÉR.	RÉACT. CONGO	AC. ABS	TOTAL	HCl L.	Cl COMB.	FIXE
-------	----------------	--------------	---------	-------	--------	----------	------

120 gr. de pain + 350 cc. café au lait.

3 h.		marquée	3.57	4.62	0	2.4	2.22
3 h. 30		franche	3.5	4.8	0.2	2.6	2
4 h.		id	3.07	4.62	0.62	1.8	2.2

50 gr. de pain + 100 gr. de viande + soupe.

2 h. 45	suc filtré : brun clair	pas énergique	3.14				
3 h. 30	id. id.	franche	3.94				
4 h.	id. pâle	id.	3.28				

120 gr. de pain + 1 tasse café au lait.

2 h.	filtré : brun	nulle	2.19	4.2	0	1.2	3
2 h. 30	id.	id.	2.62	4.48	0	1.8	2.68
3 h.	id.	franche	2.92	4.65	0.3	2	2.1
3 h. 30	plus dilué (filtré : jaune)	id	2.26	4.18	0.8	1.2	2.18
4 h.	épais (filtré : brun)	id	3	4.5	0.58	2.1	1.8
4 h. 30	jaune clair	id.	2.65	3.7	0.5	1.6	1.6

REMARQUE. Nous avons ici un exemple manifeste de double dilution à mettre à côté de ceux que nous avons trouvés chez notre - superacide. -

800 cent. cubes de lait bouilli.

2 h.		nulle	4.38	4.4	0	3	1.4
2 h. 30		id.	4.88	4.26	0	3	1.26
3 h.	dilut. manifeste	franche	3.86	4.38	0.84	2.7	0.85
3 h. 30	vide 10 cc.	id.					

Un demi-litre de lait + 2 œufs.

1 h		franche	2.4	3.96	0	1.38	2.58
2 h.		id.	2.76	4.08	0.33	1.53	2.22
2 h. 30		id.	3.21	4.1	1.1	1.63	1.37
3 h		id.	3.35	4.5	1.2	1.44	1.86
3 h. 30		id.	2.62	4	1.42	0.84	1.74

SUJET N° 11.

TEMPS	CARACT. EXTÉR.	RÉACT. CONGO	AC. ABS	TOTAL	HCl L.	Cl COMB.	FIXE
-------	----------------	--------------	---------	-------	--------	----------	------

70 gr. de pain + 1 tasse café au lait.

2 h.		franche	2.4	3.1	0.4	1.2	1.5
2 h. 30		id.	1.17	3.4	0.6	0.4	2.4

100 gr. de pain + 1 tasse café au lait.

2 h.		franche	2.19	3.3	0.18	1.6	1.5
2 h. 30		id.	2.92	3.72	0.22	2.08	1.42
3 h.	dilution manifeste	id.	1.96	3	0.36	1.14	1.5

100 gr. de pain + 1 tasse café au lait.

2 h.		franche	2.34	2.94	0.06	1.32	1.56
2 h. 30		id.	2.34	3	0.42	1.08	1.5
3 h.		id.	1.96	3.48	1.02	0.72	1.74

800 cent. c. de lait.

2 h.		nulle	2.4				
2 h. 30		pas énergique	2.9				
3 h.		franche	3.2				
3 h. 30		id.	2.7				

125 gr. de viande + 70 gr. de pain + aq.

2 h. 30		nulle	3.14	4	0	1.9	2.1
3 h.		faible	3.65	4.56	0	2.4	2.14
3 h. 30		franche	3.83	4.76	0.2	2.6	1.94
4 h.		id.	3.1	4.3	0.6	1.8	1.9

Un demi-litre de lait + 2 œufs.

1 h.		nulle	1.46	2.8	0	0.7	2.1
2 h.		douteuse	2.4	3	0	1.4	1.6
2 h. 30		franche	2.8	3.4	0.3	1.6	1.5
3 h.		id.	2.1	3	0.6	0.9	1.5

SUJET N° III.

TEMPS	CARACT. EXTÉR.	RÉACT. CONGO	AC. ABÉ.	TOTAL	HCl L.	COMB.	FIXE
-------	----------------	--------------	----------	-------	--------	-------	------

120 gr. de pain + 1 tasse café au lait.

2 h. 30		franche	3.5	4.14	0.6	1.68	1.86
3 h.		id.	3	4.08	0.9	1.7	1.5

120 gr. de pain + 1 tasse café au lait.

1 h		nulle	1.66	3	0	0.8	2.2
1 h. 30		id.	2.2	3.56	0	1.66	1.9
2 h.		assez marquée	3	4	0.12	2.2	1.68
2 h. 30		franche	3.3	4.2	0.4	2.2	1.6
3 h.		id.	2.6	3.86	0.4	1.5	1.96
3 h. 30	vide 10 cc.	nulle	0.95				

150 gr. de viande + 100 gr. de pain + aq.

3 h. 30		franche	3.76				
4 h.		id.	3.97				
4 h. 30		id.	2.4				

125 gr. de pain + 70 gr. de viande + 350 cc. aq.

2 h.		nulle	2.55	4.68	0	1.9	2.76
2 h. 30		faible	3.65	4.74	0	2.28	2.52
3 h.		franche	3.6	4.56	0.36	2.04	2.16
3 h. 30		id.	2.4	3.84	0.84	1.08	1.92
4 h.		id.	1.97	3.54	0.6	1.14	1.8

Un demi-litre de lait + 2 œufs.

2 h.		nulle	2.92	3.36	0	1.92	1.44
2 h. 30		faible	3.2	3.8	0.12	2.1	1.3
3 h.		franche	3.9	4.2	1.02	2.1	1.08
3 h. 30		id.	3.1	3.84	1.38	1.38	1.08
4 h.		id.	1.83	3.24	0.42	0.9	1.92

CONCLUSIONS DU CHAPITRE I.

Dans toutes ces expériences, nous constatons à la fin de la période digestive les phénomènes que nous avons signalés dans notre premier mémoire :

a) Abaissement rapide de l'acidité absolue, qui peut atteindre 1 p. mille et davantage en une demi-heure.

b) Diminution du chlore combiné.

c) Manière d'être variable de l'acide chlorhydrique libre, qui reste stationnaire ou qui le plus souvent augmente.

Ces trois phénomènes ne s'expliquent que par l'hypothèse d'une sécrétion relativement neutre, diluante, qui intervient en ce moment et qui contrebalance plus ou moins énergiquement la sécrétion acide qui continue à se faire. Cette hypothèse trouve sa confirmation dans les autres preuves que nous avons données : expériences de superacidification artificielle, modification brusque dans la consistance et dans la couleur du chyme, dilutions successives. Ce dernier fait prouve en même temps que la sécrétion diluante ne se manifeste pas seulement à la fin de la période digestive, mais qu'elle intervient plusieurs fois dans le cours de la digestion d'un repas.

Nous avons dit que cette sécrétion diluante appartient à la région pylorique. Il y a longtemps déjà, HEIDENHAIN et son école ont démontré que les glandes de la région pylorique de l'estomac ne sécrètent pas d'acide chlorhydrique. Enfin, la dilution des solutions concentrées de sucre, d'alcool et de peptone observée par VON MEHRING et STRAUSS vient à l'appui de notre interprétation.

Cette sécrétion neutre se fait-elle d'une façon continue à la région pylorique depuis le début de la période digestive jusqu'à l'évacuation de l'estomac, ou bien constitue-t-elle un réflexe intermittent qui intervient à un moment donné, c'est-à-dire lorsque l'acidification du chyme a atteint son apogée? La première opinion est la plus simple; seulement la rapidité avec laquelle se produisent les changements dans l'acidité absolue, dans la consistance et la couleur du chyme, nous a fait croire qu'il s'agit plutôt d'un réflexe intermittent. Les recherches sur l'influence du système nerveux dans la sécrétion gastrique que nous avons mentionnées plus haut permettent cette conception.

Nous laissons la question indécise.

CHAPITRE II.

Influence de la nature des aliments sur la
sécrétion acide de l'estomac.

Nous avons examiné l'action de l'eau distillée, de la fécule, des sucres, des albumines et de l'extrait de viande.

SUJET N° I.

TEMPS	CARACT. EXTÉR	RÉACT. CONGO	AC. ABS.	TOTAL	HCl L.	Cl COMB.	FINE
-------	---------------	--------------	----------	-------	--------	----------	------

Eau distillée.

400 cent. c. d'eau distillée.

0 h. 30		franche	2.04	2 7	1.44	0.48	0.78
1 h.		id.	2.41	3.72	1.14	0.9	1.68
1 h. 30		vide					

400 cent. c. d'eau distillée.

0 h. 30		franche	2.42	3.68	1.4	0.8	1.48
1 h.		vide id. 10cc.	1.68				

Fécule.

100 gr. de fécule + 200 cc. aq.

0 h. 30		franche	2.77	4	2.2	0.6	1.2
1 h.		id.	3.35	4.1	2.58		
1 h. 30		id.	2.84	4.02	2.16	0.6	1.26

100 gr. de fécule + 200 cc. aq.

0 h. 30		franche	2.19	3.32	1.7	0.48	1.14
1 h.		id.	3	3 96	2.3	0.3	1 36
1 h. 30		vide id.	2.34				

Albumine et extrait de viande.

5 gr. de peptone + 200 cc. aq. (acidité du mélange : 1 46 0/00).

0 h. 30		forte	4.2	4.62	3.12	0.65	0.85
1 h.		id.	3	3.6	1.86	0.6	1.14
1 h. 30		fin, forte réact.					

TEMPS	CARACT. EXTÉR.	RÉACT. CONGO	AC ABS.	TOTAL	HCl L.	Cl COMB	FIXE
-------	----------------	--------------	---------	-------	--------	---------	------

5 gr. de peptone + 200 cc. aq.

0 h. 30		forte	4.16	4.56	2.7	1.86	
1 h.		id.	3	4.02	2.1	1.92	

5 gr. extrait de viande Liebig + 200 cc. aq. (acidité du mélange : 12 0/00).

0 h. 30		franche	4.36	4.96	3.46	0.56	0.94
1 h.		id.	3.65	4.74	2.88	0.6	1.26
1 h. 30		vide id.	3				

Sucre.

50 gr. de saccharose dans 400 cc. d'eau distillée.

0 h. 30		nulle	0.3				
1 h.		franche	1.38	2.04	1.14	0	0.9
1 h. 30		vide					

100 gr. de fécule + 50 gr. de sucre de lait + 200 cc. aq.

0 h. 30		nulle	0.37				
1 h.		id.	0.87				
1 h. 30		faible	1.14				

100 gr. de fécule + 50 gr. de sucre + 200 cc. aq.

0 h. 30		faible	0.8	1.74	0.3		1.44
1 h.		id.	0.95	2.52	0.54	0.24	1.74
1 h. 30		franche	2.34	4.02	0.72	1.62	1.68

5 gr. de peptone + 50 gr. saccharose + 200 cc. aq.

0 h. 30		nulle	2.19				
1 h.		franche	3.06				

SUJET N° II.

Eau distillée.

400 cc. d'eau distillée.

0 h. 30		franche	1.1	2.1	0.6	0.3	1.2
1 h.		id.	1.6	2.8	0.8	0.5	1.5
1 h. 30		vide					

TEMPS	CARACT. EXTÉR.	RÉACT. CONGO	AC. ABS.	TOTAL	HCl L.	Cl COMB.	FIXE
-------	----------------	--------------	----------	-------	--------	----------	------

400 cc. d'eau distillée.

0 h. 30		nulle	0.45	2.4	0	2.4	
1 h.		franche	1.2	2.9	0.8	0.36	1.74

Fécule.

100 gr. de fécule + 200 cc aq.

0 h. 30		franche	2.1	3	1.44	1.56	
1 h.		id.	1.46	3.3	0.9	2.4	
1 h. 30		id. fin	1.5	3.2	1	2.22	

100 gr. de fécule + 200 cc. aq.

0 h. 30		franche	1.97	2.9	1.46	1.44	
1 h.		id.	1.6	3	0.75	2.28	
1 h. 30		vide					

Albumine et extrait de viande.

5 gr. de peptone + 200 cc. aq. (acidité du mélange : 1.46 0.00).

0 h. 30		franche	3	3.9	2.2	0.52	1.2
1 h.		id.	2.8	3.6	1.6	0.66	1.24
1 h. 30		id.	2.2	3.6	1.2	0.42	2

5 gr. de peptone + 200 cc. aq.

0 h. 30		franche	3.2	4.2	2.3	0.75	1.35
1 h.		id.	2.6	3.7	1.5	0.6	1.6
1 h. 30		fin id.	2.6	3.5	1.2	0.8	1.5

5 gr. extrait de viande Liebig + 200 cc. aq.

0 h. 30		franche	3	3.54	2	0.4	1.14
1 h.		id.	2.8	3.36	1.6	0.76	1
1 h. 30		id.	2.4	2.84	1.3	0.5	1.04

5 gr. extrait de viande Liebig + 200 cc. aq.

0 h. 30		franche	2.9	3.36	2	0.6	0.76
1 h.		id.	2.4	3.06	1.6	0.9	0.56
1 h. 30		estomac vide					

TEMPS	CARACT. EXTÉR.	RÉACT. CONGO	AC. ABS.	TOTAL	HCl L.	Cl COMB.	FIXE
-------	----------------	--------------	----------	-------	--------	----------	------

Sucre.

50 gr. sucre saccharose dans 400 cc. aq. distillée.

0 h. 30		nulle	0.3				
1 h.		id.	0.6				
1 h. 30		id.	0.53				

50 gr. sucre saccharose dans 400 cc. aq. distillée.

0 h. 30		nulle	0.55				
1 h.		id.	0.95				

100 gr. fécule + 50 gr. saccharose + 200 cc. aq.

0 h. 30		nulle	0.4				
1 h.		nulle	0.95				
1 h. 30		vide					

100 gr. fécule + 50 gr. sucre lactose + 200 cc. aq.

0 h. 30		nulle	0.7				
1 h.		très faible	1.1	2.84		0.5	2.44

SUJET N° III.

Fécule.

100 gr. fécule + 200 cc. aq.

0 h. 30		franche	1.53	2.28	1.14	0.36	0.78
1 h.		vide					

100 gr. fécule + 200 cc. aq.

0 h. 30		franche	1.26	2.34	0.7	0.48	1.36
---------	--	---------	------	------	-----	------	------

Albumine.

5 gr. de peptone + 200 cc. aq.

0 h. 30		franche	3.35	3.72	1.92	0.72	1.14
1 h.		id.	1.96	2.96	0.44	0.96	1.56

Sucre.

100 gr. fécule + 50 gr. lactose + 200 cc. aq.

0 h. 30		nulle	0.56				
1 h.		très faible	0.92				

5 gr. peptone + 50 gr. sucre saccharose + 200 cc. aq.

0 h. 30		nulle	2.06				
1 h.		franche	1.76				

CONCLUSIONS DU CHAPITRE II.

1° Les peptones et l'extrait de viande déterminent une production abondante d'HCl et doivent être considérés comme les vrais stimulants de la sécrétion chlorhydrique. Nous n'avons essayé ici que les peptones; ailleurs nous avons démontré que d'autres substances albuminoïdes : myosine, caséine, etc., agissent de la même façon.

Rappelons ici toutefois que, chez le chien, l'albumine du blanc de l'œuf est absolument inactive, d'après le mémoire récent de LOBASSOFF.

2° Le sucre (saccharose, glucose, lactose) ne donne lieu à aucune sécrétion d'acide chlorhydrique. Il n'est pas seulement inactif, mais il neutralise la stimulation exercée par d'autres substances; il exerce une véritable action inhibitive sur la sécrétion acide. Cette action inhibitive n'appartient qu'aux solutions concentrées. Lorsqu'il s'est opéré une dilution suffisante, l'acide chlorhydrique reparaît.

Est-ce à dire que le sucre n'exerce aucune action sur la muqueuse gastrique? Nous avons constaté dans notre premier mémoire (expér. 147 et 151) que les solutions concentrées de sucre introduites dans l'estomac y perdent rapidement leur concentration. Cet affaiblissement n'est pas occasionné par l'absorption du sucre. En présence des expériences de VON MEHRING et de STRAUSS, il faut admettre que cette dilution est opérée par une sécrétion neutre fournie par l'estomac.

3° Reste la fécule. Nous avons conclu d'après nos premières expériences que la fécule est inerte vis-à-vis de la sécrétion chlorhydrique; nous nous basions sur les résultats recueillis chez les deux - Moyens. - Chez le superacide et chez les sujets du présent travail, la fécule produit une sécrétion acide, toujours, il est vrai, en moindre quantité que les albumines. Ces derniers résultats sont conformes à ceux d'EWALD et BOAS⁽¹⁾ et de SCHÜLE⁽²⁾.

Voulant élucider complètement la question, nous avons examiné l'action de la fécule chez plusieurs autres individus jeunes et bien portants⁽³⁾ qui ont bien voulu se prêter à ces expériences, de sorte que nous avons au total les résultats de 15 sujets. Chez trois d'entre eux, nous avons trouvé absence complète d'HCl et même absence complète de sécrétion; une demi-heure après l'ingestion du repas, la sonde ne ramenait qu'avec grande difficulté quelques centimètres cubes d'un liquide muqueux. Chez

(1) EWALD et BOAS : *Virchow's Archiv*, Bd. 101.

(2) SCHÜLE : *Zeitschrift f. kl. Medicin*, 1895.

(3) Ces expériences sont consignées dans un travail qui paraîtra prochainement.

ceux-là, la fécule était un corps absolument inerte. Chez tous les autres, nous avons trouvé, déjà après une demi-heure, une certaine quantité d'acide chlorhydrique.

En réalité cependant, la quantité de suc sécrété est peu considérable. Chez deux de ces derniers sujets, dont le suc gastrique était caractérisé par une forte teneur en HCl, nous avons retiré par la sonde *tout* le contenu de l'estomac, une première fois 60', une seconde fois 40', une troisième fois 40' après l'administration d'un repas composé de 100 gr. de fécule dans 200 cc. d'eau. Chaque fois, le liquide retiré ne dépassait pas 50 cc. Il faut donc envisager l'action de la fécule de la façon suivante : lorsque la suspension de fécule est introduite dans l'estomac, l'eau quitte rapidement le ventricule, la fécule se dépose et reste là plus ou moins longtemps comme un corps étranger exerçant un minimum d'irritation sur la muqueuse. Si celle-ci est très sensible, elle répond à ce minimum de stimulation par une faible sécrétion d'un suc gastrique presque pur.

4° L'eau distillée est à comparer en tous points à la fécule.

Nous croyons donc que la classification des aliments en substances stimulantes, substances inactives et substances inhibitives est parfaitement justifiée.

CHAPITRE III.

L'évolution du processus digestif.

Dans des publications déjà nombreuses (1), HAYEM a étudié les variations que présentaient les différentes formes du chlore : chlore total, chlore fixe, chlore combiné et chlore libre, pendant le cours de la digestion, à l'état physiologique et à l'état pathologique, ainsi que les rapports que présentent ces différentes valeurs entre elles.

Après administration du repas d'épreuve d'EWALD et BOAS (soit 60 gr. de pain blanc + 1/4 litre de thé léger), HAYEM trouve l'évolution suivante :

1° L'acidité absolue A monte rapidement jusqu'à la 60^{me} minute, puis décroît jusqu'à la 90^{me} minute.

(1) HAYEM : *Du chimisme stomacal*. Paris, 1891. Académie des sciences, 26 juin 1893. *Bulletin médical*, n° 6, 1894; HAYEM et LION : *Maladies de l'estomac; Traité de Médecine et de Thérapeutique* de BROUARDEL et GILBERT, 1897.

2° Le chlore total T arrive aussi à son apogée au bout d'une heure et décroît ensuite comme la valeur précédente.

3° Le chlore combiné C, encore peu abondant à la 30^{me} minute, augmente rapidement jusqu'à la fin de la première heure, puis diminue légèrement.

4° Le chlore fixe F marche en sens inverse. Au début de la période digestive, il représente presque la totalité de T. Sa courbe s'abaisse rapidement pour remonter pendant la dernière demi-heure.

5° HCl libre apparaît au bout d'une demi-heure. Sa quantité reste très faible pendant toute la durée de la digestion.

D'après HAYEM (1), - la somme des deux valeurs $H + C$ peut servir à - estimer l'intensité du travail chimique exécuté à un moment donné par - l'estomac. A l'état normal, toutes choses égales d'ailleurs (même repas - d'épreuve, même moment de l'extraction), cette somme est toujours la - même et ses valeurs constitutives C et H sont entre elles dans un rapport - constant. A l'état pathologique, au contraire, elle subit, suivant les cas, - des fluctuations en plus ou en moins

Enfin, - à la période maximum d'une digestion mixte et, quel que soit le - repas employé, le rapport entre le chlore total et le chlore fixe est toujours - sensiblement $\frac{T}{F} = 3$. Cette constance à l'acmé de l'évolution d'une diges- - tion quelconque démontre d'une façon péremptoire que les fonctions gas- - triques normales, quel que soit le travail à accomplir, tendent toujours - vers un état d'équilibre invariable. -

Ces deux propositions jouent un rôle prépondérant chez HAYEM dans l'analyse des troubles sécrétoires à l'état pathologique et sont à la base de sa classification des gastrites.

Nous possédons de très nombreuses courbes des différentes valeurs du chlore, courbes qui ont toutes été faites à l'aide de sondages en série, c'est-à-dire de sondages pratiqués pendant la digestion d'un même repas à de courts intervalles. Parmi les sujets examinés, cinq ont une acidité moyenne et sont donc comparables entre eux.

Examinons quelques-unes de ces courbes.

(1) HAYEM et LION : *Loco citato*

TEMPS	AC. ABS.	TOTAL	HCl	COMB.	FIXE	TEMPS	AC. ABS.	TOTAL	HCl	COMB.	FIXE
1 h.						1 h.	1.46	2.22	0	0.24	1.98
1 h. 30						1 h. 30					
2 h.						2 h.	2.19	3.3	0.12	1.62	1.56
2 h. 15	2.8	4.02	0.8	1.26	1.98	2 h. 15					
2 h. 30						2 h. 30	2.56	3.7	0.52	1.48	1.7
2 h. 35	2.7	4.38	0.96	0.66	2.76	2 h. 35					
3 h.						3 h.	1.97	3.36	0.3	1.36	1.7
3 h. 10	2.04	5.04	1.08	0.6	3.36	3 h. 10					
3 h. 30						3 h. 30	1.6	3.22	0.4	1.02	1.8

En digestion : un demi-litre de lait bouilli + 2 crufs

1 h.	2.4	3.96	0	1.38	2.58	1 h.	1.46	2.8	0	0.7	2.1	1 h.
1 h. 30						1 h. 30						1 h. 30
2 h	2.76	4.08	0.33	1.53	2.22	2 h	2.4	3	0	1.4	1.6	2 h.
2 h. 30	3.21	4.1	1.1	1.63	1.37	2 h. 30	2.8	3.4	0.3	1.6	1.5	2 h 30
3 h.	3.35	4.5	1.2	1.44	1.86	3 h.	2.1	3	0.6	0.9	1.5	3 h.
3 h. 30	2.62	4	1.42	0.84	1.74	3 h. 30						3 h. 30
4 h.						4 h.						4 h.

Si nous analysons ces courbes et d'autres semblables, nous constatons :

1° Que l'acidité absolue augmente progressivement depuis le début jusqu'au dernier quart environ de la durée de la digestion. En ce moment, elle atteint son maximum, puis elle décline rapidement.

2° Le chlore total possède dès le début de la digestion une valeur élevée; celle-ci augmente graduellement pour diminuer pendant le dernier quart.

3° Le chlore combiné suit les fluctuations de l'acidité absolue, sa courbe s'élève progressivement au-dessus de la ligne des abscisses pendant la période d'augment pour décroître plus ou moins rapidement pendant le dernier quart de la digestion. Il est en général beaucoup plus abondant que l'HCl libre et constitue, ainsi que HAYEM l'a prétendu le premier, la partie la plus importante du chlore actif.

4° Le chlore fixe suit une marche inverse de celle de l'acidité absolue et du chlore combiné. Il est le plus abondant au début du repas, où il représente la plus grande partie de T, il diminue graduellement pendant les trois premiers quarts; pendant le dernier quart, il reste stationnaire ou augmente modérément.

5° L'HCl libre n'est appréciable qu'un certain temps après l'ingestion du repas. Il apparaît d'autant plus tardivement que le repas est plus copieux, qu'il est plus riche en substances albuminoïdes et que la puissance sécrétoire est plus faible. Une fois que HCl se montre à l'état de liberté, il ne disparaît plus et augmente de plus en plus jusqu'à la fin du repas.

Ces conclusions sont assez conformes à celles de HAYEM; mais ici nous devons nous séparer de cet auteur, parce que nous n'attribuons à ces lois qu'une valeur relative : *Les différentes valeurs, T, H, C, F, peuvent dans des conditions identiques, c'est-à-dire même repas d'épreuve et même moment de l'extraction, se traduire par des chiffres très variables d'individu à autre* et cela sans qu'il existe un rapport entre leurs variations respectives; en d'autres termes, lorsque nous trouvons chez un individu une valeur plus grande pour T que chez un autre, F ou H ou C peuvent augmenter, diminuer ou rester stationnaires. Il s'en suit naturellement que les rapports entre ces différentes valeurs n'ont aucune fixité. Ainsi dans le dernier exemple de la page précédente : un demi-litre de lait + 2 œufs, nous trouvons à l'acmé de la période digestive :

(3 heures) Chez le n° I, T = 4,5, forte valeur; F = 1,86, forte valeur.

Chez le n° II, T = 3, très faible valeur; F = 1,5, val. moyenne.

Chez le n° III, T = 4,2, forte valeur; F = 1,08, faible valeur.

Le rapport $\frac{T}{F}$ donne respectivement 2,42, 2 et 3,9. Nous pouvons citer des exemples encore plus démonstratifs.

Comme nous aurons encore l'occasion de le dire, la sécrétion chlorhydrique de l'estomac n'obéit pas à des lois tellement rigoureuses et nous croyons que c'est attacher trop d'importance à l'HCl que de vouloir trouver dans l'étude de ce seul facteur la clef des troubles gastriques.

En terminant ce travail, je remercie M. le professeur IDE pour les conseils éclairés qu'il n'a cessé de me donner pendant tout le temps que j'ai travaillé sous sa direction.

MATIÈRES COLORANTES AZOTÉES

CHEZ DES

CHAMPIGNONS

THÈSE DE PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE

PRÉSENTÉE A L'EXAMEN DU DOCTORAT EN SCIENCES NATURELLES

PAR

R. VAN DEN DRIES

(Mémoire déposé le 10 décembre 1897.)

MATIÈRES COLORANTES AZOTÉES CHEZ DES CHAMPIGNONS

INTRODUCTION

Les recherches qui sont exposées dans ces pages ne constituent pas une étude complète. Ce n'est, espérons-nous, que le premier terme d'une série de travaux qui seront publiés dans la suite. Telles qu'elles sont, nous croyons qu'elles introduisent un fait nouveau dans le chapitre des matières colorantes chez les champignons, fait qu'il est bon de signaler.

« Il n'y a, dit ZOPF (1), sur les 33,000 espèces de champignons relevés dans le sylloge de SACCARDO que 2 ou 300 numéros sans mention de couleur spéciale..... Malgré cette extension des pigments, il n'y a que relativement peu de champignons qui aient fait l'objet de recherches concernant la nature de leur matière colorante. Nos connaissances sont très limitées par le fait même. Cependant les recherches ont amené la découverte de toute une série de colorants spécifiquement différents, et on peut espérer que de nouvelles recherches augmenteront considérablement la série. En tout cas, les botanistes et les chimistes ont encore un vaste champ de travail. »

Le titre que nous donnons à cette étude indique suffisamment que c'est la présence d'azote dans de telles matières colorantes, que nous croyons digne d'être signalée.

L'exposé de nos recherches sur ce point sera assez détaillé pour permettre à chacun de répéter nos expériences et, s'il y a lieu, de les utiliser dans des études du même genre. Elles nous ont coûté assez de peines et de

(1) WILHELM ZOPF : *Die Pilze*; Breslau, 1890, p. 143.

pertes de temps, pour que nous souhaitions à d'autres de pouvoir entrer rapidement dans une voie qui conduit à des résultats dignes d'être enregistrés.

EXPOSÉ DES RECHERCHES

1° *Aspergillus niger*.

Dans une note présentée en 1891 à l'Académie des Sciences, M. LINOSSIER rend compte de la découverte d'une hématine végétale dans les spores de l'*Aspergillus niger*.

Cette matière colorante, qu'il nomme *aspergilline*, aurait avec la matière colorante du sang, l'hématine, de grands points de rapprochement.

Il en donne quelques propriétés physiques : insolubilité dans l'eau, l'alcool, les dissolvants neutres en général, solubilité dans les alcalis dilués, l'eau ammoniacale, les sels à réaction alcaline.

D'après lui, les solutions alcalines absorbent complètement tous les rayons du spectre. Enfin, comme l'hématine, l'aspergilline brûle à l'air en laissant comme cendres une forte proportion d'oxyde de fer. Il présume que l'aspergilline sert à fixer l'oxygène de l'air à la façon d'une véritable hématine.

La présence d'une aussi grande quantité de fer dans l'aspergilline nous a paru extraordinaire : en effet, dans des milieux de culture où n'existaient que des traces de fer, l'*Aspergillus niger* nous donnait une végétation très active, sans que nous ayons jamais observé de ralentissement dans la production de ses spores noires caractéristiques.

Nous avons donc résolu d'entreprendre l'étude de cette matière colorante.

L'*Aspergillus niger* croît avec rapidité sur les milieux les plus divers. Son milieu de prédilection est la liqueur de RAULIN, où la production est poussée à son maximum. Mais sur pomme de terre, pain, tranches de citron, moût de bière gélatiné, sa végétation est assez intensive pour étouffer les autres cultures. Nous nous sommes servi de la liqueur RAULIN ou de pain arrosé de celle-ci. Les spores qui provenaient de cultures sur d'autres milieux nous ont donné les mêmes résultats, mais la production de la matière colorante y est moindre.

Toutes nos cultures étaient pures et les milieux stérilisés à l'autoclave

à la pression d'une atmosphère. Nous avons, comme il convient, employé des récipients à très large surface pour éviter une végétation mycélienne plongeante se développant au détriment de la production des spores. Les récipients ensemencés sont portés à l'étuve à la température de 25° à 30°. Au bout de quatre jours, un mycélium blanc a envahi toute la surface et les premiers rameaux sporifères apparaissent. Six jours après, on peut considérer la production des spores comme terminée.

Voici la composition de la liqueur RAULIN :

Eau	1000	cc.		
Saccharose	46,6	-	d'une solution à 10 o/o	
Ac. tartrique 10 o/o	2,66	-	"	"
+ Carbonate de magn.				
Nitrate ammonique	2,66	-	"	"
Phosphate "	0,40	-	"	"
Carbonate de potassium	0,40	-	"	"
Sulfate ammonique	0,16	-	"	"
Sulfate de zinc	0,046	-	"	"
Sulfate de fer	0,046	-	"	"
Silicate de potassium	0,046	-	"	"

Un litre de cette liqueur arrosant 1 Kg. de pain distribué en 15 récipients nous a fourni 3 grammes de matière colorante pure.

Extraction de la matière colorante. On détache le mycélium avec ses spores du milieu de culture; il forme en effet une croûte résistante, facile à séparer du substratum. On le débarrasse par lavage à l'eau des impuretés y attachées. Ces précautions doivent être minutieusement observées; car, vu la grande masse à traiter pour un rendement si minime, il convient d'écarter toute cause d'impureté dans l'extrait.

Si faire se peut, il est préférable de râcler la surface supérieure, afin de n'enlever que les spores et d'écarter le mycélium non productif.

Les spores sont ensuite mises en digestion dans de l'eau légèrement ammoniacale. Après six jours, l'eau a pris une coloration brun-foncé et les spores, au microscope, apparaissent complètement décolorées. On filtre la solution; une quantité de spores restent sur le filtre; mais ces spores étant fort petites (3,6 microns), il est difficile de s'en débarrasser tout à fait. Les filtres de plâtre et d'amianté conviennent pour de petites quantités de

liquide, mais avec de forts volumes, les spores ne tardent pas à les obstruer totalement. Nous avons obtenu des résultats on ne peut plus satisfaisants au moyen d'entonnoirs en porcelaine à cloison perforée garnis d'un double filtre durci n°575 de SCHLEICHER et SCHÜLL, de Düren, et d'une trompe de GEISSLER. Après deux filtrations, nous avons vérifié que pas une spore n'avait passé dans le filtrat.

Celui-ci est neutralisé par l'acide chlorhydrique très dilué jusqu'à réaction légèrement acide. Immédiatement, la matière colorante se précipite en grumeaux rouge-brun qui se déposent. On décante et filtre encore sur un filtre n° 575 de SCHLEICHER et SCHÜLL, qui présente ici l'avantage de ne point adhérer à la matière amorphe et de se laisser râcler sans abandonner de fibres de son tissu. Nous obtenons ainsi une pâte noire qui, en se desséchant, prend un aspect bleuâtre, brillant. On la met en suspension dans l'eau distillée et on refiltre; on opère de même avec l'alcool, l'éther et l'acide acétique. On lave ainsi jusqu'à ce que le liquide passe incolore. On dessèche ensuite définitivement dans un dessiccateur à H_2SO_4 . On broie et on obtient une poudre noire, brillante, qui laisse sur le mortier une trace brune. L'aspergilline est alors suffisamment purifiée et prête pour l'analyse.

Propriétés de l'aspergilline. L'aspergilline est insoluble dans l'eau, l'alcool, l'éther, l'acide acétique, les acides minéraux étendus, le sulfure de carbone, l'alcool amylique, l'éther de pétrole, la benzine, etc. Elle se dissout dans l'ammoniaque, les alcalis dilués, les carbonates alcalins. Elle est précipitée de sa solution ammoniacale par la baryte. La solution ammoniacale soumise à l'évaporation spontanée laisse déposer la matière à l'état amorphe. Jamais nous n'avons pu obtenir sa cristallisation. L'alcool légèrement chlorhydrique en dissout des traces avec coloration verdâtre. L'acide sulfurique concentré la dissout avec sa couleur naturelle et sans dégagement de gaz. Par addition d'eau, cette solution donne un précipité brun formé de grumeaux analogues à ceux que donne la neutralisation de la solution ammoniacale par l'acide chlorhydrique. Cette matière précipitée a le même spectre que la matière non traitée, ce qui semble prouver qu'elle est soluble comme telle, sans aucun changement dans sa molécule.

Ce *spectre* ne rappelle en rien celui de l'hématine. Les raies de la partie antérieure du spectre manquent. Elles seules auraient de l'importance au point de vue des fonctions physiologiques de la matière colorante et

surtout du rapprochement à faire avec l'hématine du sang et les autres matières colorantes respiratoires.

Pour ce qui est de l'hématine en particulier, le traitement à l'acide sulfurique concentré enlève le fer à sa molécule et le spectre devient celui de l'hémato-porphyrine.

De plus, l'aspergilline ne subit pas, comme l'hémoglobine, l'action de l'acide cyanhydrique, ni celle de l'oxyde de carbone. Son spectre n'est aucunement modifié.

Le spectre de l'aspergilline est un spectre continu. L'absorption part du violet et augmente en intensité et en largeur avec l'épaisseur du liquide ou sa concentration. A la limite de transparence, le rouge seul passe. En diluant la solution, le jaune et le vert apparaissent. En poussant la dilution jusqu'au jaune clair, sous une épaisseur de 6 cm., les rayons violets sont seuls absorbés en totalité, la région du bleu présente un obscurcissement faible. Dans aucune circonstance, nous n'avons pu observer de raie en aucun point du spectre. Sans vouloir rien préjuger sur la nature de la matière, nous constatons que l'acide tannique ordinaire, bruni par l'action de la lumière, donne un spectre absolument identique.

Action des agents réducteurs. On peut faire passer pendant 2 heures un courant d'hydrogène dans une solution diluée d'aspergilline dans l'ammoniaque sans obtenir la moindre décoloration. Les sulfites décolorent les solutions.

L'hydrosulfite de soude, fraîchement préparé d'après des indications de SCHUTZENBERGER, et en excès, les décolore rapidement jusqu'au jaune. C'est la confirmation de l'observation de M. LINOSSIER. A l'air, la solution redevient lentement rouge. Étendue sur du papier buvard, la solution reprend instantanément sa couleur. Il faut donc admettre dès à présent que la matière fixe énergiquement l'oxygène et qu'il faut les plus forts réducteurs connus pour le lui enlever.

L'hydrogène naissant obtenu soit par la soude et la poudre de zinc, soit par l'acide acétique et le zinc, fait passer la solution au vert, puis au jaune. Le moindre contact avec l'oxygène de l'air suffit à ramener la teinte.

Par contre, nous n'avons pas réussi à la décolorer avec le chlorure stanneux en solution alcaline.

Action des agents oxydants. L'eau oxygénée n'a d'autre action que celle qui est due à l'acidité du réactif. La matière colorante précipite.

L'eau de brome la précipite en jaune.

Le chlore agit de même. Il suffit de faire passer dans les solutions un courant de ce gaz pour les décolorer, en même temps qu'il se précipite un corps jaune.

Le chlorure de chaux produit un précipité jaune foncé qui se décolore ensuite complètement. C'est une réaction qui lui est commune avec l'extrait de chataignier. Or on sait que cet extrait est fortement tannifère.

L'acide nitrique ordinaire et l'acide nitrique rouge fumant donnent également des précipités. Le permanganate de potasse en solution alcaline ne donne pas de précipité. La coloration violette du permanganate fait place à une splendide couleur rouge cerise, absolument analogue à l'orseille. A chaud, toute coloration disparaît et l'oxyde brun de manganèse se précipite. Cette action est sensiblement différente de celle des autres oxydants.

L'acide chromique dilué ou concentré ne donne qu'un précipité, comme tous les acides. Ce précipité ne se dissout pas à chaud.

Action de la chaleur. Soumise à l'action de la chaleur sur une feuille de platine, la matière reste intacte jusque vers 150°, mais elle devient insoluble. A une température plus élevée, elle perd de l'azote et dégage une odeur empyreumatique. Chauffée au rouge sombre dans un tube à combustion, sans être mélangée à de l'oxyde de cuivre, et dans une atmosphère d'acide carbonique, elle a fourni la totalité de son azote. Malgré cela, la matière avait gardé son aspect de poudre noire, mais douée d'un éclat beaucoup moindre. Elle avait en outre perdu la faculté de se dissoudre dans l'eau ammoniacale.

A la même température, mais en présence de l'air, elle brûle avec incandescence. Elle ne laisse pas de cendres en quantités appréciables. Celles-ci sont d'ailleurs absolument blanches. Nous reviendrons sur ce point.

Analyse élémentaire.

Dosage du carbone et de l'hydrogène.

Pour opérer ces dosages, nous avons employé un tube à combustion ouvert, en verre d'Iena, rempli d'oxyde de cuivre. La substance exactement pesée est mélangée d'oxyde de cuivre et placée dans une nacelle en platine. Le tube à combustion est d'abord, à l'ordinaire, porté au rouge sombre dans la portion remplie d'oxyde de cuivre, puis lentement dans la région occupée

par la nacelle. Les produits formés sont chassés ensuite par un courant d'air sec et privé d'acide carbonique.

L'eau et l'acide carbonique furent recueillis respectivement dans un tube à chlorure de calcium et dans un barboteur de LIEBIG garni de potasse caustique, préalablement pesés.

Voici les résultats obtenus :

1^{re} Analyse.

Poids de la substance . . .	0,2521
- - CO ₂ . . .	0,5086
- - H ₂ O . . .	0,1257
Composition centésimale C % .	55,02
H % .	5,5

2^{me} Analyse.

Poids de la substance . . .	0,3143
- - CO ₂ . . .	0,6455
- - H ₂ O . . .	0,1415
Composition centésimale C % .	55,5
H % .	5,25

Dosage de l'Azote.

Nous avons choisi comme la plus exacte la méthode de DUMAS. Le tube employé pour le dosage du carbone sert encore ici. Mais la combustion a lieu dans un milieu complètement privé d'azote. Ce dernier point est obtenu en adaptant au tube à combustion un tube en fer rempli de bicarbonate de potasse. En chauffant progressivement ce dernier, on obtient un courant modéré d'acide carbonique pur qui balaie complètement l'air de tout l'appareil. On ne commence la combustion qu'au moment où les gaz sortant du tube sont absorbés en totalité par l'appareil à potasse, ce qui démontre l'absence d'azote. Les composés azotés qui se dégagent pendant la combustion s'oxydent en passant sur la couche d'oxyde de cuivre chauffée au rouge. Pour les réduire à l'état d'azote libre, qu'il s'agit de mesurer, le tube porte à sa partie supérieure une spirale de cuivre métallique qui a été préalablement grillée, puis réduite à chaud par l'alcool méthylique.

L'azote est recueilli dans une éprouvette graduée remplie de soude caustique concentrée. Pour la lecture du volume gazeux, on égalise la pression dans l'éprouvette à celle de l'atmosphère; on fait la correction nécessaire

pour ramener la lecture à la pression normale, en tenant compte de la température et de la tension de vapeur qui y correspond.

Voici les résultats :

1^{re} Analyse.

Poids de la substance	.	0,2725 gr.
Volume obtenu	. . .	11,0 cm ³
Température	. . .	11°
Pression	. . .	760 mm.
Azote %	. . .	4,55

2^{me} Analyse.

Poids de la substance	.	0,2447 gr.
Volume obtenu	. . .	9 cm ³
Température	. . .	12°
Pression	. . .	761 mm.
Azote %	. . .	4,54

Recherches des cendres.

I.	Poids de la substance	.	0,5666 gr.
	Cendres	. . .	0,01 = 1,76 %
II.	Poids de la substance	.	0,5552 gr.
	Cendres	. . .	0,004 = 0,72 %

Analyse des cendres.

La minime quantité obtenue ne nous a permis que des recherches analytiques par voie sèche, qui sont d'ailleurs suffisamment concluantes.

Recherche du fer. L'essai à la perle de borax devait nous donner, pour attester la présence du fer, une coloration jaune à la flamme d'oxydation et verte à la flamme de réduction. Elle est restée incolore.

Une partie des cendres a été dissoute dans l'acide chlorhydrique en oxydant avec un grain de chlorate de potasse. Le sulfocyanure ne nous a point donné de coloration rouge. Nous concluons à l'absence totale de fer.

Nous avons fait ensuite la recherche du zinc et du magnésium, métaux qui entrent dans la formule nutritive de RAULIN.

Zinc. Sur le charbon, après calcination en présence d'azotate de cobalt, nous n'avons pas obtenu de coloration verte. De plus, les réactions par voie humide ont fourni des résultats négatifs.

Magnésium. En solution ammoniacale, l'addition de phosphate de sodium et de chlorure ammonique n'a pas donné de précipité de phosphate ammoniaco-magnésien.

Une partie des cendres étant soluble dans l'eau, nous en avons fait l'analyse spectroscopique, qui a amené la raie D du *sodium* et les 2 raies du *potassium*.

Le résidu insoluble dans l'eau s'est dissous dans l'acide chlorhydrique. Il a fourni les raies 41 et 60 du *calcium*.

CONCLUSIONS. La présence des sels alcalins et calciques doit être attribuée à des impuretés; l'écart considérable entre les chiffres 1,76 o/o et 0,72 o/o le prouve à toute évidence. On peut d'ailleurs difficilement écarter toute trace d'impureté.

Si la première analyse des cendres nous a quelque peu éloigné du résultat exact, nous devons l'attribuer à un lavage trop peu prolongé des précipités. La matière qui nous a servi provenait d'une de nos premières extractions.

Nous n'avons donc trouvé aucune trace d'oxyde de fer. Au surplus, les cendres obtenues étaient blanches et non rouges comme l'exigerait la présence d'oxyde de fer. Ces résultats concordent avec les formules nutritives de RAULIN. Un litre contient 0,046 cc. d'une solution à 10 o/o de FeSO_4 7aq. Le fer ne s'y trouve donc qu'en quantité infinitésimale $\left(\frac{1}{500000000}\right)$.

Composition centésimale de l'aspergilline.

La teneur en carbone, hydrogène, azote, nous conduisait à un total de 65,29 o/o. Restait 34,71 o/o à attribuer à l'oxygène, au soufre, au phosphore, au chlore, etc., qui pourraient faire partie intégrante de la molécule.

Pour la *recherche du soufre*, nous avons suivi la méthode de LIEBIG, spécialement destinée à l'analyse des substances organiques sulfurées non volatiles.

De l'hydrate de potasse pur est fondu avec 1/8 de salpêtre dans une capsule en argent. On y ajoute après refroidissement un poids connu de matière. On chauffe et maintient la masse en fusion jusqu'à décoloration de la matière charbonnée. Dans ces conditions, le soufre est oxydé et donne du sulfate de potassium. On dissout la masse dans l'eau, on sursature d'acide

chlorhydrique et on précipite par le chlorure barytique. L'aspergilline ne nous a donné aucun précipité; elle est donc dépourvue de soufre.

Recherche du phosphore. Elle se fait dans les mêmes conditions que pour le soufre. L'acide phosphorique formé serait précipité à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien. Nous n'avons obtenu qu'un résultat négatif. Donc, absence de phosphore.

Recherche du chlore et des halogènes. On opère comme pour le soufre et le phosphore, mais on précipite par le AgNO_3 en solution nitrique. L'argent précipiterait le chlore, le brome, l'iode, à l'état de sels d'argent. Nous n'avons obtenu aucun précipité argentique. En conséquence, l'aspergilline ne renferme ni chlore, ni brome, ni iode.

Nous pouvons donc, sans crainte d'erreur, attribuer à l'oxygène seul le surplus de 34,71 0/0 qui reste après décompte du carbone, de l'hydrogène et de l'azote.

Ainsi, cent parties de substance contiennent :

Carbone	55.35
Hydrogène	5.25
Azote	4.54
Oxygène	34.71
	<hr/>
	99.85

Ce qui concorde avec la formule minima : $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}_6$.

2° *Aspergillus fuliginosus.*

Nous avons recherché l'aspergilline dans d'autres champignons. L'*Aspergillus fuliginosus*, par sa ressemblance physique avec l'*Aspergillus niger*, devait un des premiers attirer notre attention. Il a pleinement répondu à notre attente. Traitées à l'eau ammoniacale, ses spores nous ont donné immédiatement une solution rouge sang identique à celle obtenue précédemment. Nous avons autant que possible opéré dans les conditions mentionnées pour le précédent champignon, soit dans les modes de culture, soit dans l'extraction et la préparation de la matière colorante.

Propriétés de la matière colorante de l'Aspergillus fuliginosus.

Comme celle de l'*Aspergillus niger*, elle est insoluble dans l'eau, l'alcool, l'éther et les dissolvants neutres en général. Elle se dissout dans les

alcalis dilués et les sels alcalins. Sa solution dans l'eau ammoniacale a la même coloration rouge brun et le même spectre que celle de l'*Aspergillus niger*. De même, elle est précipitée de ses solutions par les acides. Pas plus que la première, elle ne nous a fourni de cristaux.

Cette identité de propriétés physiques et chimiques nous permettait déjà de supposer que si les deux matières ne sont pas identiques, elles sont du moins très semblables et appartiennent à un même groupe.

Les analyses qui suivent démontrent l'identité des deux produits.

Combustions pour la recherche du carbone et de l'hydrogène.

1^{re} Combustion.

Poids de la substance	.	0,2242
- " CO ₂	.	0,4542
- " H ₂ O	.	0,1164

d'où nous tirons la composition centésimale :

C %	55,25
H %	5,68

2^{me} Combustion.

Poids de la substance	.	0,2992
- " CO ₂	.	0,6084
- " H ₂ O	.	0,1387

d'où la composition centésimale :

C %	55,46
H %	5,1
Moyenne { C %	55,35
{ H %	5,36

Combustions pour le dosage de l'azote.

1.	Poids de la substance	.	0,2078
	Volume obtenu	.	8,5 cm ³
	Température	.	19,5°
	Pression	.	746 mm.
	N %	.	4,77
2.	Poids de la substance	.	0,2846
	Volume obtenu	.	11 cm ³
	Température	.	16°
	Pression	.	748 mm.
	N %	.	4,21

Dosage des cendres. 0,5130 de substance laissent 0,003 de cendres, soit 0,58 pour cent de matière séchée sur l'acide sulfurique.

La recherche du soufre, du phosphore, du chlore, ne nous donne que des résultats négatifs.

*Nous concluons à la formule minima : $C_{14}H_{10}NO_6$, qui est celle trouvée pour l'*Aspergillus niger*.*

Le fait de l'existence commune d'un composé particulier aussi complexe que l'aspergilline dans deux espèces de champignons rapproche celles-ci l'une de l'autre. On peut cependant les distinguer à première vue. Les cultures mûres de l'*Aspergillus niger* ont, comme celles de l'*Aspergillus fuliginosus*, une couleur brun noir ; mais, dans le *niger*, les appareils sporifères sont sensiblement plus gros. La face inférieure du mycélium est toute blanche chez le *niger*, tandis que chez l'autre elle est verdâtre.

La spécificité de l'*Aspergillus niger* a été caractérisée par RAULIN à l'aide de l'action du zinc. Nous avons pu constater sur nos cultures l'influence de ce métal. Nous avonsensemencé dans la liqueur RAULIN des spores de l'*Aspergillus niger* et de l'*Aspergillus fuliginosus*. Le développement y est très actif pour les deux espèces, quoique plus marqué pour l'*Aspergillus niger*. Ensemencés dans le liquide de RAULIN privé de zinc, l'*Aspergillus fuliginosus* continue son développement normal, tandis que le rendement du *niger* diminue considérablement.

Cultivés dans la liqueur HAYDUCK légèrement modifiée (1), tous deux ont une végétation très peu active; leurs spores sont peu nombreuses et n'apparaissent qu'après 10 jours. Le mycélium nage en grande partie dans le liquide en produisant des formes levures et une petite quantité de matière colorante rouge se dissolvant dans le liquide. Les spores ne sont point en contact avec la liqueur.

Cultivée sur moût, sur moût gélatiné, sur pomme de terre, pain et autres milieux divers, la végétation est toujours intensive, pour l'un comme pour l'autre.

(1) La formule d'HAYDUCK comprend

Asparagine	20 gr.	} pour 1 litre.
Phosphate bipotassique	25 gr.	
Sulfate de magnésium	8 gr.	

C'est un milieu de culture pour les levures.

Nous remplaçons l'asparagine par {	Acide tartrique	10 gr.
	Urée	7.5 gr.
	Glucose	8.0 gr.

La propriété de colorer les milieux qui baignent le mycélium a été observée sur un grand nombre d'espèces distinctes de mucédinées.

Nous avons observé chez les deux *Aspergillus* le spectre d'absorption de cette matière colorante dissoute. Il est identique à celui de l'aspergilline (1).

DISCUSSION DES RÉSULTATS.

Maintenant que nous sommes en possession de la composition élémentaire de l'aspergilline et de sa formule minima, nous allons essayer d'entrer un peu plus avant dans l'étude de ses propriétés intimes et, si c'est possible, de lui fixer une formule chimique rationnelle, sinon une formule de structure.

Recherches sur la nature et les fonctions de l'aspergilline (2).

C'est sur l'azote que se porteront d'abord nos investigations. Ce sera avec d'autant plus de raison que c'est, croyons-nous, la première matière colorante azotée bien authentique qui soit signalée dans les champignons (abstraction faite des lichens). M. ZOFF, qui donne la littérature de ce chapitre de la physiologie des champignons et qui lui-même a étudié plusieurs de ces pigments, n'en cite du moins aucun dans son " Pilze " (3).

L'azote de l'aspergilline.

La première chose que nous devons nous demander était celle-ci : « L'aspergilline n'est-elle pas un sel ammoniacal ? » Étant donné le mode d'extraction que nous avons employé, il était possible, quoique peu probable, que la matière eût retenu énergiquement une certaine quantité d'ammoniaque. D'un autre côté, on sait que l'orcine, corps ternaire présent dans

(1) Cette apparition de matières colorantes diffusant dans les liquides de culture varie assez notablement d'après les divers milieux. Nous avons cultivé pendant un an, dans les milieux de culture les plus divers, un *Aspergillus* qui nous avait donné dans le moût de bière une magnifique coloration rouge, sans jamais plus la voir réapparaître. Sur le pain arrosé du liquide de RAULIN, elle se produit dès que les cultures vieillissent.

(2) Nous gardons à la matière colorante des deux *Aspergillus* le nom qui lui a été donné par M. LINOSSIER.

(3) *Die Pilze*, von Wilhelm ZOFF, Breslau, 1890. — DRAGENDORF a signalé la présence d'une matière colorante azotée dans l'ergot : il l'a nommée *scleurodine*. KOMMIER en a trouvé une autre dans des bois altérés par la *Peziza aeruginosa*; celle-ci porte le nom de *Xylindène*. Ces deux matières sont insuffisamment connues.

certains lichens, se transforme par l'ammoniaque en un corps azoté qui est l'orcéine (1).

Nous avons employé les moyens nécessaires pour nous assurer de l'absence totale d'ammoniaque, comme telle, dans l'aspergilline. Pour cela, nous avons eu recours aux méthodes de distillation qui permettent de chasser cette base sans attaquer aucun autre groupement azoté. A priori, il fallait rejeter la soude, la chaux, la baryte caustique. Il nous restait la méthode classique de BOUSSINGAULT à la magnésie calcinée, celle au carbonate de baryum récemment précipité et enfin celle au carbonate de calcium précipité. Nous avons choisi cette dernière qui a l'avantage de garder indéfiniment son action décomposante sur les sels ammoniacaux. Nous nous sommes assuré d'abord que du sulfate d'ammoniaque traité par un excès de ce sel, abandonné à la distillation la totalité de son ammoniaque.

Après une ébullition de plusieurs heures, aucune trace d'ammoniaque n'a pu être décelée par le réactif de NESSLER. On doit donc admettre que l'aspergilline n'est pas un sel ammoniacal (2).

Reste à voir si elle pourrait être amine, ou acide amidé, ou encore une véritable amide renfermant les deux radicaux CONH_2 et CHNH_2 ou CH_2NH_2 .

En premier lieu, nous avons essayé l'hypobromite de soude, suivant les indications de KNOR. On sait que l'urée donne dans cet essai tout son azote. D'autre part, l'asparagine n'en donne pas; du moins la réaction n'a pas l'instantanéité requise pour de pareils dosages.

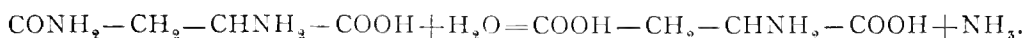
Traitée par l'hypobromite, l'aspergilline ne donne pas d'azote, sinon avec une très grande lenteur. Le dégagement d'azote dure plusieurs jours. C'est une nouvelle preuve de l'absence d'ammoniaque comme telle.

En second lieu, nous pouvions essayer l'hydratation de la matière soit par les alcalis dilués, soit par les acides dilués à chaud. M. SCHÜTZENBERGER a ainsi dédoublé les albuminoïdes progressivement jusqu'aux termes acide carbonique et ammoniaque en se servant de l'eau de baryte sous pression. Mais nous avons craint que cette action fût trop éner-

(1) WURTZ : Dictionnaire de chimie pure et appliquée. — Articles *Orcéine* et *Orcéine*.

(2) On pourrait objecter, que l'intervention de l'ammoniaque dans la préparation de l'aspergilline (p. 417) peut introduire l'azote dans sa molécule, comme cela se passe dans la fabrication de l'orcéine au moyen de l'orcéine; on sait que ce dernier corps, par le contact de l'ammoniaque et de l'air, fixe de l'ammoniaque et de l'oxygène, pour donner un composé qui n'est pas un sel ammoniacal. — Ce n'est pas ainsi que les choses se passent pour l'aspergilline. Car si l'on remplace l'ammoniaque par la soude, l'aspergilline renferme encore de l'azote que l'analyse fractionne en trois portions d'égale valeur.

gique et nous avons préféré utiliser l'action hydratante de l'acide chlorhydrique dilué. Les amides ainsi traitées se transforment en un sel ammoniacal, d'où l'on peut subséquemment dégager l'ammoniaque et retirer l'acide pour le soumettre à de nouvelles recherches. Ainsi l'asparagine, pour prendre un exemple vulgaire, se transforme en aspartate d'ammoniaque. Le dosage de l'ammoniaque prouve que l'opération se fait suivant l'équation suivante :



Après avoir dégagé l'ammoniaque, un traitement à l'acide nitreux fait voir qu'il subsiste encore autant d'azote dans l'acide provenant du déboulement et que cet azote s'y trouve à l'état d'amine primaire — CHNH_2 . Voici comment nous avons opéré :

Dans un ballon de 250 à 300 cc., nous avons introduit 0 gr. 3298 de matière séchée sur l'acide sulfurique dans le vide, 90 cc. d'eau, puis 10 cc. d'acide chlorhydrique pur de $D = 1,18$. Après cela, nous avons adapté l'appareil à un réfrigérant à reflux et chauffé à l'ébullition pendant 2 heures. L'appareil étant refroidi, nous avons neutralisé par du carbonate de chaux précipité en évitant toute projection, ajouté un excès de carbonate et soumis le liquide à la distillation. Les vapeurs condensées étaient recueillies dans de l'acide sulfurique normal décime.

Après 1 3/4 heure de chauffe, 3 cc. de l'acide titré se trouvaient neutralisés; nous avons poursuivi la distillation pendant trois autres quarts d'heure. Il avait passé assez d'ammoniaque pour neutraliser encore un demi-centimètre cube d'acide. Nous avons interrompu la distillation après avoir constaté au moyen du réactif de NESSLER l'absence totale d'ammoniaque dans les dernières gouttes distillées.

Or, 3,5 cc. d'acide sulfurique normal décime annoncent 4 mg. 9 d'azote. Il y en avait d'après les résultats de l'analyse élémentaire 14 mg. 8 dans nos 0 gr. 3298 de matière ayant servi à cette recherche. D'où nous trouvons qu'un tiers exactement de l'azote avait passé à la distillation.

Dès à présent, si la méthode est bonne, nous pouvons admettre que l'aspergilline renferme trois atomes d'azote dans sa molécule et qu'il faut tripler sa formule minima.

Pour nous assurer de l'exactitude de la méthode, nous avons soumis au même traitement 10 cc. d'une solution d'asparagine normale décime, devant neutraliser exactement 10 cc. d'acide sulfurique normal décime, puisque 1 molécule d'asparagine fournit 1 molécule d'ammoniaque.

Voici les résultats obtenus :

Chauffage avec l'acide chlorhydrique étendu : 2 heures. Distillation avec excès de CaCO_3 .

H_2SO_4 neutralisé après	30'	5,4 cc.
- " "	40'	6,4
- " "	50'	7,4
- " "	1 h. 20'	10,0

Les résultats sont absolument exacts.

Nous pouvons donc conclure qu'il n'y a que le $\frac{1}{3}$ de l'azote de l'aspermigilline qui peut exister à l'état de $\text{CO}-\text{NH}_2$ (1).

Un second dosage fait sur 0 gr. 3750 de matière, en portant la quantité d'acide chlorhydrique à 15 cc. pour 85 cc. d'eau, nous a fourni les résultats suivants.

Après deux heures de chauffe, on a filtré le liquide et lavé soigneusement la partie insoluble.

Le filtrat distillé avec un excès de CaCO_3 précipité a donné :

après	30'	1,6 cc. d' NH_3 normale	décime		
- 1 h.		1,0	-	-	-
- 1 h. $\frac{1}{2}$		0,5	-	-	-
- 2 h.		0,4	-	-	-
- 2 h. $\frac{1}{2}$		0,2	-	-	-
- 3 h.		0,1	-	-	-
Total		3,8	-	-	-

Le maximum d'ammoniaque qu'on pût obtenir pour avoir le tiers de l'azote eût été 4 cc. Le dosage ayant été fractionné en 6 parties peut avoir été moins exact que le premier, mais il est cependant encore très satisfaisant.

Un troisième essai, sur 0,350 gr. de matière, a donné 3,85 d'ammoniaque normale décime.

Le total de l'azote de la substance employée, calculé en ammoniaque, comportait 11,3 cc., dont le $\frac{1}{3}$ est 3,8. On voit que les résultats sont on ne peut plus concordants.

Recherche d'un radical amine primaire, $-\text{CNH}_2$. La méthode classique est l'emploi de l'acide nitreux. Qualitativement, nous pouvons affirmer qu'elle nous a donné un résultat positif. Mais pour ce qui est du dosage de l'azote dégagé, nous avons éprouvé tant de difficultés pour nous procurer un nitrite

(1) Il pourrait se faire qu'il ait la forme $\text{C}-\text{NOH}$ ou encore $\text{C}-\text{NH}$. Voir à ce sujet ALEXÉYEFF : *Méthodes de transformations des combinaisons organiques*. Paris, 1891.

potassique ou sodique exempt de carbonate, que les mesures d'azote dégagé ne nous ont pas été possibles.

Il faut en effet, pour opérer ce dosage, que les gaz dégagés par l'action des acides dilués sur le nitrite soient complètement absorbables par une solution concentrée de sulfate ferreux, à l'exception de l'azote seul, ce qui n'est pas facile à obtenir.

Nous avons donc dû tourner la difficulté. Nous y sommes parvenu en nous basant sur l'expérience suivante :

L'asparagine chauffée avec les alcalis se transforme en aspartate d'ammoniaque, et l'excès de soude ou de potasse chasse l'ammoniaque. Mais les auteurs recommandent aussi de ne pas chauffer trop longtemps ni trop fort, si l'on veut n'obtenir que l'ammoniaque dérivant du radical CONH_2 . Cela semble indiquer que la décomposition peut atteindre le radical CHNH_2 lui-même. Nous nous sommes donc assuré qu'une distillation à fond d'asparagine avec un excès de soude livre tout l'azote de la molécule sous la forme d'ammoniaque.

D'après cela, quand le filtrat provenant du traitement de l'aspergilline par l'acide chlorhydrique cessa de donner la moindre trace d'ammoniaque en présence d'un excès de CaCO_3 , nous avons laissé refroidir le ballon de distillation. Après quoi, nous avons filtré et lavé le carbonate avec de l'eau distillée.

Le filtrat, introduit dans un ballon, fut additionné de soude caustique concentrée exempte d'azote et soumis à une nouvelle distillation. Nous avons poussé celle-ci jusqu'à ce que le distillat ne colorât plus la liqueur de NESSLER.

Nous avons ainsi obtenu 3,14 cc. d'ammoniaque normale décime, au lieu de 3,8 cc. que nous aurions dû obtenir pour avoir exactement le $\frac{1}{3}$ de l'azote total renfermé dans 0,350 de matière.

La filtration peut avoir affaibli le résultat obtenu, mais nous avons distrait une petite quantité de liquide pour vérifier si la matière colorante, qui avait conservé sa couleur primitive, précipitait encore par l'acide chlorhydrique, ce qui en effet était le cas. Nous avons négligé de mesurer cette quantité, de sorte que l'exactitude de ce dernier résultat ne peut pas être prouvée.

Nous ne sommes pourtant pas tout à fait dépourvu de contrôle. Soumise à l'action de l'acide chlorhydrique étendu et bouillant, l'aspergilline avait laissé une matière insoluble qui était restée sur le filtre. Ce filtre étant en papier de Suède composé de cellulose pure et exempte d'azote, nous l'avons introduit avec le résidu insoluble dans un ballon et chauffé avec de

la soude caustique à 5 o/o pendant une couple d'heures. *Nous avons encore recueilli 3,4 cc. d'ammoniaque normale décime.* Les trois portions 3,4, 3,85 et 3,14, sans tenir compte de la correction que nous avons reconnue impossible, sont suffisamment voisins du rapport 1 : 1 : 1, pour que nous puissions admettre *trois espèces d'azote dans l'aspergilline et lui fixer pour formule rationnelle* : $(C_{14}H_{10}NO_6)_n$.

Nous avons admis pour le premier atome le groupement $CONH_2$; nous avons vu qu'un second doit, d'après la réaction de l'acide nitreux, se trouver à l'état d'amine primaire $-C-NH_2$. Si la soude peut attaquer des groupements azotés autres que celui-là, nous n'avons aucune raison d'en admettre plusieurs dans la fraction que nous avons traitée par cet agent.

Nous pouvons dans tous les cas éliminer $-C-NOH$ et $-C-NH$ qui auraient passé à l'état ammoniacal par l'action de l'HCl dilué, et aussi $C-NO_2$ qui, nous le savons, reste inattaqué par l'ébullition avec les alcalis.

Quant au troisième atome, qui est respecté par l'acide chlorhydrique et transformé par la soude en ammoniaque, nous pouvons simplement dire qu'il n'est pas à l'état de $-C-NO_2$, ou du moins que le radical nitré, s'il existe, n'est pas aromatique.

Recherches sur les fonctions des radicaux hydrogénés et hydro-oxygénés de l'aspergilline.

Nous n'espérons pas apporter une solution parfaite à cette partie de notre étude. Nous disposons de trop peu de matière pour cela, malgré le nombre de cultures que nous avons faites, et le temps employé à la retirer et à la purifier. Nous allons simplement exposer le résultat des recherches qui donnent au moins des indications sérieuses.

Fonction acide ou phénolique. — La prédilection marquée de l'aspergilline pour tous les milieux alcalins, sa propriété de s'y dissoudre avec facilité et d'en être précipitée par tous les acides indiquent nettement le caractère acide de la matière. Cette acidité n'est cependant pas décelable par les papiers réactifs. La coloration propre de la matière s'oppose à cette constatation. Il est, dans tous les cas, bien certain que c'est un acide faible. Nous n'avons pu obtenir aucun sel, du moins sous une forme cristalline, et de plus sa dissolution dans les carbonates ne donne lieu à aucun dégagement d'acide carbonique. Cette propriété lui est commune avec les phénols.

Cette dernière indication nous conduisit immédiatement à rechercher dans l'aspergilline le ou les noyaux aromatiques possibles.

Nous rappellerons, dès l'abord, les précipitations de corps colorés en jaune par l'action de l'acide nitrique concentré ordinaire et par l'action de l'acide nitrique rouge fumant, ou encore de l'eau de brome, qui ne sont que des indications.

La recherche directe du noyau aromatique a été faite au moyen de l'acide chlorhydrique concentré et du chlorate de potasse. Beaucoup de corps aromatiques traités de cette façon donnent la quinone tétrachlorée, $C_6Cl_4O_2$ ou chloranile, facilement cristallisable en tables hexagonales brillantes.

N'ayant pas obtenu ce corps, nous avons fait le même essai avec l'acide phénique et l'acide tannique. Le premier nous a fourni rapidement le produit caractéristique. Au contraire, le tannin ne nous en donna pas du tout. Cet insuccès prouve qu'un résultat positif est concluant, mais qu'un résultat négatif n'exclut pas nécessairement la présence d'une chaîne aromatique.

Cette analogie entre l'action du chlore naissant sur le tannin et sur l'aspergilline, de même que l'identité des spectres de ces deux matières, nous a engagé à étudier l'action de l'iode sur les deux substances.

Dans une note insérée dans le *Moniteur scientifique* du Dr QUESNEVILLE, FERDINAND JEAN rend compte du pouvoir absorbant du tannin pour l'iode en présence des carbonates alcalins. Sans avoir étudié le composé formé, il constate que 1 partie de tannin suffit pour que 4 parties d'iode en solution dans l'iodure de potassium ne soient plus retrouvables par l'hyposulfite de soude.

La méthode exige un certain nombre de solutions titrées dont voici, la liste :

- 1° Une solution normale de carbonate de soude;
- 2° une solution normale d'acide sulfurique;
- 3° une solution d'iode normale cinquantième;
- 4° une solution d'hyposulfite de soude $\frac{4}{50} N$ à 9 gr. 920 par litre;
- 5° une solution d'acide gallo-tannique à 0 gr. 050 pour 100 cc.;
- 6° une solution fraîchement préparée d'amidon;
- 7° une solution à 0,5 milligramme par centimètre cube du corps à étudier.

Il faut enfin un essai à blanc avec de l'eau distillée et tous les réactifs moins le tannin, pour tenir compte de l'action du volume du liquide, du fait que les solutions ne gardent pas indéfiniment leur titre, — ce qui est

spécialement le cas pour les solutions d'hyposulfite, — et de l'action de la lumière.

Voici maintenant la manière d'opérer :

On prend trois flacons coniques de 100 cc. environ; dans le premier, on verse 10 cc. d'eau distillée; dans le second, 10 cc. de solution d'acide gallo-tannique; dans le troisième, 10 cc. de la solution à étudier. Puis, on ajoute à chacun 4 cc. de la solution de carbonate de soude et immédiatement après, en tenant compte de la minute où se fait cette addition, 20 cc. de la solution d'iode normale cinquantième. On s'assure qu'il y a un excès d'iode en posant sur une feuille de papier amidonné une goutte du deuxième et du troisième flacon, ce qui doit donner une coloration bleue. Si ce n'était pas le cas, on doublerait la dose d'iode dans chaque flacon.

Après cinq minutes exactement comptées et suivant l'ordre de la première opération, on neutralise le carbonate par 4 cc. d'acide sulfurique normal, et on verse dans chaque flacon 10 cc. d'hyposulfite de soude 4 normal cinquantième, dose correspondante aux 20 cc. d'iode primitivement versés.

Immédiatement après, on met dans chaque flacon quelques gouttes de solution amidonnée et on titre l'hyposulfite par l'iode.

Quand les solutions sont bien au titre voulu, il ne faut qu'une ou deux gouttes d'iode pour colorer le témoin en bleu. Pour les autres flacons, il en faudra introduire un volume correspondant, pour le tannin, à l'expérience de FERDINAND JEAN, et, pour le corps étudié, à sa capacité d'oxydation ou de fixation de l'iode.

Une première expérience nous a donné pour l'aspergilline une capacité d'absorption d'environ la moitié de celle du tannin.

Ce premier essai était encourageant, car nulle part nous ne voyons l'iode se fixer aussi aisément sur les corps non aromatiques (1).

Nous avons étudié de plus près cette réaction en comparaison avec des corps aromatiques non phénoliques et des phénols mono- et polyvalents.

Nous avons employé en une première série l'acide salicylique, la résorcine, la phloroglucine, un acide gallo-tannique obtenu récemment de la maison E. MERCK de Darmstadt, avec la garantie « purissimum pro analysi ».

(1) Les composés renfermant $C\equiv C$, dit ALEXÉYEFF, *l. c.*, fixent seulement I_2 et encore avec peu d'énergie; par exemple pour combiner le tolane $\begin{array}{c} C-C_6H_5 \\ ||| \\ C-C_6H_5 \end{array}$ avec l'iode, il faut chauffer leur mélange jusqu'à la fusion.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

Acide salicylique	— 10 cc. ou 5 milligr.	ont absorbé	8,7 cc.	Iode N/50
Résorcine	"	"	11,4	"
Tannin vieux	"	"	10,2	"
Tannin récent	"	"	10,5	"
Phloroglucine (1. 3. 5.)	"	"	8,7	"

Le calcul montre que ces quantités d'iode correspondent pour l'acide salicylique à 4,8 atomes, en chiffres ronds 5, pour la résorcine à 5 atomes d'iode, pour les deux tannins à 13,7 et 14 atomes d'iode, pour la phloroglucine à 6 atomes d'iode.

Ces chiffres correspondent à une fixation d'iode dépassant souvent le nombre d'atomes d'hydrogène substituables à première vue dans les formules de ces corps. Et même, en tenant compte du pouvoir additionnel des dérivés benzéniques, nous serions encore loin de compte dans l'exemple du tannin.

On pourrait croire, par exemple, que le dérivé iodé de la phloroglucine aurait pour formule $C_6(I_2)_3 - (OH)_3$, ce qui correspond à la quantité d'iode absorbée; mais il n'y a pas moyen, en admettant ce processus, d'expliquer la présence de 13 ou 14 atomes d'iode dans un dérivé iodé du tannin. La formule de ce dernier corps, communément admise, doit s'écrire $C_6H_2 - (OH)_3 - CO - O - C_6H_2 - (OH)_2 - COOH$. Le dérivé iodé, par substitution et addition, serait $C_6(I_2)_2(OH)_3 - CO - O - C_6(I_2)_2(OH)_2 - COOH$, soit 8 atomes d'iode au lieu de 13 ou 14 qui devraient y être introduits d'après les expériences rapportées plus haut.

Force nous était donc de chercher autre chose.

En parcourant dans le dictionnaire de WÜRTZ et les traités récents de chimie organique tout ce qui avait trait aux phénols mono- ou polyvalents, nous avons trouvé deux petites notes concernant l'action de l'iode sur l'orcine et la phloroglucine. Elles sont toutes les deux de HLASIWETZ.

La première est extraite du *Journal für pract. Chemie*, t. CI, p. 325 :

« La solution aqueuse d'orcine, dit-il, dissout l'iode sans se colorer et sans donner d'acide iodhydrique. Elle enlève l'iode à sa solution dans le sulfure de carbone. Par évaporation de la liqueur dans le vide, l'orcine se sépare de nouveau inaltérée et l'iode se sublime » (WÜRTZ, t. II, p. 646).

La seconde est tirée des *Wiener Akad. Berichte*, t. LII, 2^e partie, p. 84.

« La phloroglucine dissout l'iode sans coloration sensible et le sulfure de carbone n'enlève pas l'iode au liquide; mais lorsqu'on évapore dans le

vide, l'iode se sublime et il reste un résidu de phloroglucine. », (WÜRTZ, t. II, 2^e partie, p. 929).

Enfin, WÜRTZ rapporte également que l'iode n'agit sur l'acide pyrogallique que vers 200° (t. II, 2^e partie, p. 1236).

Cette dernière note nous paraît se rapporter à l'action de l'iode sec sur l'acide pyrogallique solide, et partant ne nous intéresse pas.

Quant aux observations de ILASIWETZ, sans avoir le loisir de contrôler les sources pour y trouver de plus amples détails, il nous paraît qu'elles ne peuvent se rapporter qu'à une addition simple. C'est bien ce qui résulte de la sublimation d'iode qu'il a observée, ainsi que du fait que l'orcine et la phloroglucine se retrouvent comme telles dans le résidu.

Dans tous les cas, *en solution purement aqueuse, l'absorption de l'iode est extrêmement limitée*. Nous avons trouvé qu'en faisant agir l'iode par petites portions, en présence d'amidon soluble fraîchement préparé, 5 milligr. de naphтол donnent la réaction de l'iode libre après addition d'un centimètre cube d'iode, 5 milligr. d'orcine après addition de 2,1 cc. d'iode et 5 milligr. de pyrogallol après addition de 3,6 cc. d'iode. La réaction est achevée après quelques minutes; un contact de plusieurs heures n'y change rien.

Ces chiffres correspondent par molécule à 0,6, 1,1 et 1,8 atomes d'iode par molécule de chacun de ces corps. Ils nous paraissent trop éloignés d'un rapport par nombres entiers de 1, 2, 3 atomes par molécule, pour que nous y attachions une grande importance. On ne peut cependant s'empêcher de remarquer qu'ils sont entre eux comme 1 : 2 : 3.

Nous n'avons pas poursuivi la comparaison sur les autres corps cités plus haut, trouvant les quantités d'iode ainsi fixées absolument sans rapport avec ce qui se passe en présence du carbonate sodique. Il ne faut d'ailleurs qu'une quantité de ce réactif bien inférieure à celle qu'on emploie, pour que l'absorption de l'iode atteigne son maximum.

Les composés ainsi formés sont certainement doués d'une assez grande stabilité. Nous avons laissé pendant des heures le précipité iodé obtenu avec le phénol et l'acide salicylique, avec un excès d'hyposulfite. Il est resté inaltéré. Nous doutons fort qu'une addition simple de l'iode aux phénols puisse résister à l'action de l'hyposulfite.

Nous admettons donc une vraie substitution, atteignant d'ailleurs un très haut degré, de l'iode à un certain nombre de radicaux des phénols. Mais nous ne savons pas encore si l'absorption d'iode par les phénols en présence du carbonate de soude est bien caractéristique de la fonction phénol ni si

elle lui est proportionnelle. De la réponse à ces deux questions dépendent toutes nos conclusions sur le rôle des radicaux hydrogénés et oxy-hydrogénés de l'aspergilline.

Il nous restait donc une dernière série d'essais à exécuter et nous l'avons choisie aussi large et aussi concluante que possible.

En partant du phénol qui est monosubstitué et qui n'a que les deux fonctions hydrocarbure et phénol, *nous avons éliminé successivement l'influence des radicaux* — CHO, — COOH, — CO, — SO₂, — NO₂, en comparant l'action de l'iode sur le phénol à celle qu'il exerce sur l'aldéhyde benzoïque, l'acide benzoïque, la nitro-benzine, la saccharine et la nitro-saccharine, dont les formules respectives sont : C₆H₅ — OH, C₆H₅ — CHO, C₆H₅ — COOH, C₆H₅NO₂, C₆H₄ $\left\langle \begin{smallmatrix} \text{CO} \\ \text{SO}_2 \end{smallmatrix} \right\rangle$ NH, C₆H₅NO₂ $\left\langle \begin{smallmatrix} \text{CO} \\ \text{SO}_2 \end{smallmatrix} \right\rangle$ NH. *Le phénol seul a absorbé de l'iode, non enlevable par l'hyposulfite*(1).

Puis, passant aux phénols polysubstitués, mono- ou polyvalents, nous avons comparé à nouveau le naphтол, l'acide phénique, l'acide salicylique, tous monophénols, la résorcine, l'orcine ou méthylrésorcine, la phénolphtaléine, tous trois biphéols, la phloroglucine et l'acide pyrogallique, phénols trivalents, le tannin, pentaphénol, l'orcéine, dérivé azoté de l'orcine, le tout en comparaison avec l'aspergilline.

Voici les résultats obtenus :

Naphтол	5 mill. absorbent	5,5 cc. iode N/50
Phénol	-	13,8
Acide salicylique	-	10,0
Résorcine	-	11,9
Orcine	-	9,7
Phénolphtaléine	-	5,0
Phloroglucine	-	8,8
Pyrogallol	-	17,5
Tannin	-	12,0
Orcéine	-	1,8
Aspergilline	-	3,6

Si nous transformons ces résultats analytiques en équations moléculaires, nous trouvons que pour

(1) Dans les mêmes conditions, l'aniline a absorbé 1 at. d'I₂ par molécule.

1 molécule de naphтол,	il entre en réaction	3 atomes d'iode
- phénol	-	5,2
- acide salicylique	-	5,5
- résorcine	-	5,0
- orcine	-	5,5
- phénolphtaléine	-	6,3
- phloroglucine	-	6,0
- pyrogallol	-	9,0
- tannin	-	14,0
- orcéine	-	3,6
- aspergilline	-	12,8

Il y a, semble-t-il, dans cette série, assez d'éléments pour établir une loi de proportionnalité entre le nombre d'atomes utilisés pour chaque réaction et la constitution de chacun des phénols étudiés. Nous devons pourtant avouer qu'elle nous échappe totalement.

Si nous comparons les divers phénols au point de vue de la proportion o/o du radical OH qu'ils contiennent, nous obtenons le tableau suivant :

Pyrogallol	OH o/o	37,5	Nombre proportionnel d'iode	17,5
{ Phloroglucine	-	29,9	-	8,8
{ Orcine	-	27,4	-	9,7
Tannin 2 aq.	-	25,1	-	12,0
Phénol	-	18	-	13,8
{ Résorcine	-	15,4	-	11,9
{ Phénolphtaléine	-	14,1	-	5,0
{ Ac. salicylique	-	12,3	-	10,0
{ Naphтол	-	11,8	-	5,5

Il suffit de rapprocher la phloroglucine et l'orcine de la résorcine pour voir que les deux premières renferment deux fois autant d'OH o/o que la troisième, et ont un chiffre proportionnel d'iode inférieur à celui de cette dernière. Pour chacun des points du tableau, on peut faire la même observation.

Pour ce qui est de l'hydrogène, nous obtiendrions le classement suivant : Pyrogallol 7^e, phloroglucine 8^e, tannin 9^e..., phénol 1^{er}, naphтол 3^e.

Il en est exactement de même pour les sommes d'OH et de H o/o.

Si l'on veut au contraire ne tenir compte que du nombre des OH et et des H substituables, on a :

Pyrogallol	H_3	$(OH)_3 = 6$	Iode employé	9	atomes.
Phloroglucine	H_3	$(OH)_3 = 6$	"	6	"
Tannin	H_4	$(OH)_3 = 9$	"	14	"
Orcine	H_3	$(OH)_2 = 5$	"	5,5	"
Phénol	H_5	$(OH)_1 = 6$	"	5,2	"
Phénolphthaleïne	H_8	$(OH)_2 = 10$	"	6,3	"
Résorcine	H_4	$(OH)_2 = 6$	"	5,0	"
Ac. salicylique	H_4	$(OH)_1 = 5$	"	5,5	"
Naphtol	H_7	$(OH)_1 = 8$	"	3,0	"

On voit que le nombre des oxhydriles ne peut pas nous servir davantage de guide que celui des atomes d'hydrogène. Rien ne nous indique le nombre d'atomes d'hydrogène qui peuvent être substitués dans l'une quelconque des réactions. Bien plus, pour l'acide pyrogallique et le tannin, la somme des oxhydriles et des hydrogènes est inférieure au nombre des atomes d'iode entrés en réaction d'une quantité égale à celle des atomes d'hydrogène (1).

Nous étions désorienté par l'absence d'indications sur des dérivés aussi riches en iode, quand nous tomba sous les yeux la description d'un composé bromé de la résorcine, auquel on donnait la formule $C_6HBr_3 \begin{smallmatrix} \diagup OBr \\ \diagdown OBr \end{smallmatrix}$, puis d'un second $C_6H_2Br_3 - OBr$ de l'acide salicylique en solution étendue, par l'eau de brome.

Nous avons aussitôt contrôlé l'action de l'eau de brome sur notre série de phénols, et nous avons été frappé de la différence extrême entre les produits obtenus par l'addition lente de l'eau de brome et par l'addition rapide d'un fort excès de réactif (2). Pour l'acide salicylique et le phénol, il fallut employer exactement 4 atomes de brome pour obtenir une réaction totale. Celle-ci répond à la formation du tribromophénol et d'une molécule d'acide bromhydrique $C_6H_2Br_3OH + HBr$, comme aussi à la formation du tribromophénate de brome, lequel se forme en réalité. (Voir FRIEDEL : *Cours de chimie organique*, 2^e partie. Paris, 1888, p. 49.)

C'est un corps blanc s'agglomérant rapidement en même temps que la liqueur s'éclaircit, juste au moment où il y a assez de brome pour former le composé susdit : cette réaction permet le dosage direct des phénols et de l'acide salicylique par le brome et réciproquement. *Mais il faut verser petit*

(1) Le chiffre 14 atomes d'iode indique par la dernière série d'essais est certainement trop fort pour le tannin. Nous préférons le chiffre 13, trouvé dans d'autres essais, ce qui nous donne $5(OH) + 4H + 4 = 13$, et pour le pyrogallol $3(OH) + 3H + 3 = 9$.

(2) L'eau de brome, étant comme l'iode, $\frac{N}{20}$.

à petit le brome dans les phénols, parce que en présence d'un grand excès de brome rapidement ajouté, on obtient un corps qui cristallise en petites paillettes jaunes et qui pourrait être le pentabromophénate de brome, C_6Br_5-OBr .

Pour l'orcine et la phloroglucine, les composés renfermant 4 atomes de brome ne précipitent pas, du moins en solution aussi étendue, mais les composés bromés au maximum se précipitent dans un excès de brome. Ce sont également des paillettes, les unes brunes, les autres blanches.

L'aspergilline traitée par l'eau de brome ne pouvait fournir de bons résultats, étant forcément dissoute dans un sel alcalin, et se précipitant quand, sous l'action du brome, le sel devient neutre. Nous pouvions seulement après ces essais chercher à établir des formules de phénols iodés correspondants aux mêmes corps bromés dont nous avons constaté l'existence.

Nous aurions ainsi, par exemple : avec l'acide salicylique le tétra-iodophénate d'iode C_6HI_4-OI ; avec l'orcine et la résorcine les triiodo-orcinate et résorcinate d'iode $C_6HI_3(OI)_3$ et $CH_3-C_6I_3-(OI)_3$; avec le naphthol le diiodo-naphtolate d'iode (1).

Mais aucune des réactions ainsi indiquées ne rend compte du nombre d'atomes d'iode fixés par l'acide pyrogallique et par le tannin. Il pourrait se faire qu'il y ait pour ces deux corps formation de dérivés de substitution et d'addition de la forme $C_6(I_2)_3(OI)_3$ et $C_6(I_2)_2(OI)_3-CO-O-C_6(I_2)_2(OI)_2-COOH$ renfermant respectivement 9 et 13 atomes d'iode. Il serait certainement intéressant d'étudier à ce point de vue tous les dérivés galliques. Mais ce serait sortir de notre cadre. Il nous suffit que de tels composés soient possibles pour que nous soyons obligé de partir de là pour calculer le nombre de radicaux phénoliques pouvant exister dans le corps que nous étudions.

Si nous supposons un groupement pyrogallique $-C_6H_2(OH)_3$, dans l'essai à l'iode 7 atomes de ce corps seront utilisés. S'il s'agissait d'acide gallique, le groupement $-C_6H(OH)_3-COOH$ pourrait utiliser 5 atomes d'iode; un groupement gallo-tannique $-C_6H(OH)_3-CO-O-C_6H_2(OH)_2-COOH$ en demanderait 11 (2).

(1) Depuis la rédaction de ce travail, nous avons appris que la chimie a lancé dans le commerce pharmaceutique un antiseptique, sous le nom de *nosophène*, qui est un tétra-iodo-phthaléinate de soude, lequel correspondrait parfaitement à un tétra-iodo-phthaléinate d'iode. Ce corps renfermerait donc 6 atomes d'iode, chiffre que nous avons trouvé dans nos essais sur la phénolphtaléine, p. 438.

(2) Si la soudure se faisait au détriment d'un oxydride, l'absorption d'iode devrait être d'une unité plus élevée pour chacun des cas, que l'iode entre dans la molécule sous la forme I_2 à la place de chaque hydrogène substitué, ou bien qu'il se forme une molécule d'acide iodhydrique en même temps qu'un atome d'iode remplace un atome d'hydrogène, chose qui est certainement plus probable, mais que nous n'avons pas le loisir de vérifier.

Comme, d'autre part, le spectre de l'aspergilline concorde si parfaitement avec celui du tannin et que la matière colorante est acide, nous nous croyons autorisé à admettre dans sa molécule l'existence d'un groupement monovalent $-\text{C}_6\text{H}(\text{OH})_3-\text{CO}-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_2(\text{OH})_2-\text{COOH}$, lequel utiliserait dans la réaction de FERDINAND JEAN 11 atomes d'iode. Nous ne pouvons supposer ce que devient le 12^e atome d'iode absorbé, à moins qu'il ne se substitue au radical amine de l'amide résiduelle $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_6$, auquel serait combiné le tannin. Il va sans dire, en effet, que nous n'avons pas la prétention d'affirmer que le groupement tannique, dont nous admettons l'existence dans la molécule de l'aspergilline, soit précisément le groupement gallo-tannique. Nous savons parfaitement que la réaction sur laquelle nous nous appuyons n'a fait l'objet d'aucune étude approfondie, et que la centaine d'essais dont nous avons rapporté déjà trop longuement, mais incomplètement pourtant, les résultats, n'éclaircissent qu'imparfaitement son mécanisme. Un groupement OH en plus ou en moins, une chaîne latérale courte ou longue remplaçant un atome d'hydrogène peuvent très bien s'accorder avec les données analytiques que nous avons obtenues, et modifier par le fait même la formule tannique et celle de l'amide à laquelle elle serait soudée.

D'après ce qui précède, nous pouvons donc admettre que l'aspergilline renferme cinq oxhydriles phénoliques, avec deux chaînes benzéniques. Pour ce qui est de l'azote, nous croyons avoir démontré que ce corps se trouve engagé dans un groupement $-\text{CH}-\text{NH}_2$, et un groupement $\text{C} \begin{smallmatrix} \text{O} \\ \diagup \\ \text{NH}_2 \end{smallmatrix}$. Le troisième groupement azoté pourrait encore être $-\text{CH}-\text{NH}_2$; il n'est sûrement pas $-\text{CHNO}_2$.

Nous espérons arriver un jour à étudier de plus près l'acide amidé qui reste dans la solution, d'où le carbonate élimine l'ammoniaque provenant du radical $-\text{CONH}_2$, après traitement par HCl.

RECHERCHES SUR D'AUTRES CHAMPIGNONS.

Nous nous sommes demandé si l'aspergilline forme une exception parmi le grand nombre de matières colorantes des champignons, ou si elle n'est que le type d'une série de corps analogues constituant une famille naturelle. Les hyménomycètes nous présentent sous ce rapport un bel exemple : les travaux de STAHLSCMIDT et de BÖHM ont mis en lumière l'existence dans ces végétaux d'une série d'acides (Polyporsäure, Luridussäure, Pantherinusäure), que leur constitution chimique range pour ainsi dire en une série

d'homologues (1). Le même fait se représente pour un groupe de matières colorantes jaunes réunies sous le nom de lipochromes, dont les propriétés physiques et chimiques, étudiées par BACHMANN, font des corps très voisins (2).

Pour trancher cette question, il nous fallait extraire la matière colorante d'un certain nombre de champignons appartenant à divers groupes non encore étudiés à ce point de vue, et en rechercher les points de rapprochement avec l'aspergilline.

Fusarium hordei. Ce champignon, récemment étudié par SACCARDO, est un parasite du blé. Sa forme périthécienne l'identifie, ou du moins le rapproche du genre *Sphaeroderma*. Il envahit les germoirs de brasserie et y développe activement son mycélium d'un blanc d'ouate. S'il est semé sur des milieux humides et riches en matières amylacées, on voit apparaître au bout de quelques jours une teinte rose dans les parties du mycélium en contact avec le substratum. C'est ce que SACCARDO avait déjà observé.

Mais dans des milieux favorables, notamment sur du pain arrosé de liquide RAULIN, cette coloration s'accroît, devient écarlate et même pourpre virant au noir.

L'extraction de cette matière est difficile, vu son insolubilité dans la plupart des réactifs. L'acide acétique glacial et bouillant nous a donné une solution rouge foncé, d'où la matière colorante cristallise en fines aiguilles s'agglomérant en sphéro-cristaux rouges.

Elle est insoluble dans le chloroforme, l'alcool, l'éther, l'alcool amylique, très peu soluble dans l'éther acétique.

Elle est insoluble aussi dans l'eau ammoniacale et les solutions alcalines. Elle ne rentre donc pas dans la série de corps dont nous cherchons l'existence.

Il n'y a qu'à mentionner son spectre, analogue à celui de l'aspergilline, sans bandes ni raies.

Aspergillus terricola. Ses spores brunes restent intactes dans l'eau, l'eau ammoniacale, l'alcool et l'éther. L'acide acétique en extrait une matière jaune, dont le spectre d'absorption correspond à celui du champignon précédemment étudié. Nous devons donc aussi l'écarter, tout en signalant sa grande analogie de propriétés avec celle du *Fusarium*.

(1) ZOFF : *Die Pilze*; chapitre de la physiologie, p. 148-150.

(2) ZOFF : *Id.*, *id.*, p. 144-148.

Aspergillus purpureus? La matière colorante de ce champignon réside, comme chez le *Fusarium*, dans son mycélium âgé. Les cultures jeunes ont à peine une coloration rosée. Les spores en sont vertes. Il nous a été impossible de séparer le mycélium de son substratum solide. Sur des milieux aqueux les plus divers, la production de matière est insignifiante et celle-ci diffuse dans le liquide.

Nous avons donc traité champignon et substratum par l'alcool à chaud⁽¹⁾. La solution rouge-brun fut évaporée à siccité et le résidu lavé à l'eau chaude et à l'alcool à froid. On obtient ainsi une masse sirupeuse presque noire qui, broyée après dessiccation, donne une poudre brun foncé soluble en totalité dans l'eau ammoniacale.

Elle est soluble aussi dans l'éther, l'alcool méthylique, insoluble dans l'acide sulfurique concentré.

Les sels à réaction alcaline, la potasse et la soude, la dissolvent également bien.

Un essai de saponification à la potasse alcoolique ne nous a point donné de résultats, car la matière précipite en grande partie par la potasse en excès et à chaud.

Les solutions alcalines d'un rouge magnifique virent au jaune par les acides. Cette propriété est extrêmement sensible. Elle est décelée, comme pour la phénolphtaléine, par une goutte d'acide sulfurique N/10 en excès.

Ce caractère tend à faire admettre que cette matière colorante est une base.

Elle n'est point encore à rapprocher de l'aspergilline; sa manière d'être vis-à-vis des acides et sa solubilité dans les dissolvants ordinaires l'en écartent.

Le peu de matière extraite ne nous a pas permis d'en faire des recherches plus approfondies.

Polyporus sulphureus. La pulpe de ce champignon est imprégnée d'une matière colorante qui lui donne sa teinte jaune caractéristique.

Pour l'extraction de cette matière, on dessèche progressivement les chapeaux découpés, on les broie et on traite la poudre brune, odorante, qui en résulte par l'alcool à chaud. Dans l'extrait concentré se trouve une matière colorante brune mélangée à des impuretés de toute espèce, donnant par concentration et refroidissement des masses cristallines.

(1) L'eau ammoniacale dissout cette matière colorante, mais elle est impuissante à l'extraire des cellules du mycélium.

Nous n'avons pu déterminer la nature de cette matière; elle est insoluble dans l'alcool, l'éther, soluble en faible quantité dans l'eau ammoniacale, insoluble dans les acides dilués. Ses propriétés ne correspondent pas à celles de l'aspergilline; nous ne nous en sommes pas occupé plus longuement.

Les résidus, après extraction à fond par l'alcool bouillant, sont colorés en jaune. Rien ne nous décèle la présence d'une autre matière colorante. *Mais lorsqu'ils sont délayés dans de l'eau ammoniacale, il se produit une coloration rouge foncé qui diffuse dans le liquide.* Nous mettons donc en évidence la présence d'une matière colorante acide, qui se colore intensément au contact des alcalis. Il y a lieu de supposer que la pulpe du champignon était à réaction acide et nous en cachait l'existence.

Après 2 jours de digestion, nous filtrons la masse et opérons la précipitation par l'acide chlorhydrique dilué. Nous obtenons des grumeaux jaunes que nous filtrons. Les opérations de lavage sont les mêmes que celles décrites pour l'aspergilline.

Après dessiccation dans le vide sur de l'acide sulfurique, la matière se présente sous la forme d'une poudre brune.

Propriétés. Elles sont identiques à celles de l'aspergilline : même solubilité dans les alcalis et sels à réaction alcaline ; même insolubilité dans l'alcool, l'éther, les dissolvants ordinaires. L'acide acétique glacial en dissout des quantités notables avec coloration jaune. Toutes les solutions alcalines ont la coloration rouge brun de l'aspergilline dans l'ammoniaque. Les solutions ammoniacales précipitent par la baryte en flocons jaunes.

L'acide azotique fumant nous donne une décoloration complète avec un précipité amorphe, jaune.

Spectre. Il est analogue à celui de l'aspergilline : absorption du violet au bleu inclus.

Action de la chaleur. Lorsqu'on chauffe à l'air sur une feuille de platine, il se dégage une odeur de corne brûlée, qui rappelle celle de l'aspergilline dans les mêmes conditions. Cette propriété nous décelait presque certainement la présence de l'azote.

Dosage de l'azote. Nous avons poursuivi la recherche et le dosage de ce corps en faisant emploi de la méthode précédemment décrite.

Une portion de 0 gr. 27 de substance a été introduite dans un ballon avec 90 cc. d'eau distillée et 10 cc. HCl. Après 2 heures d'ébullition à l'appareil à reflux, on filtre à froid et on lave soigneusement.

Le filtrat est neutralisé par CaCO_3 précipité. On en ajoute un excès et distille en recueillant l'ammoniaque dégagée dans l'acide sulfurique normal décime.

Après 1 h. 1/2, ont passé 2,3 cc. de NH_3 normale décime.

Déjà à ce moment, tout l'azote transformé est chassé, car une nouvelle distillation de 1/2 h. n'a même plus donné de traces d'ammoniaque.

Cette première distillation achevée, nous ajoutons de la soude caustique au résidu et nous poursuivons l'opération.

Voici les chiffres :

Après 1/2 h.	ont passé 0,4 cc. d' NH_3 normale décime
„ 1 h.	„ 1,2 „ „
„ 1 h. 1/2	„ 0,5 „ „
Total : 2,1	

L'opération est terminée, car il n'y a plus trace d' NH_3 dégagée après une distillation nouvelle d'une 1/2 heure. Nous observons encore ici que la soude a son maximum d'efficacité après concentration de la solution.

La portion restée insoluble dans le premier traitement à l'acide chlorhydrique et distillée avec de la soude nous donne :

Après 1/2 h. —	0,7 cc. d' NH_3 normale décime
„ 1 h. —	1,2 „ „
„ 1 1/2 h. —	0,5 „ „
Total 2,4	

Nous concluons donc à un total de 6,8 cc. d' NH_3 pour 0,27 gr. de substance, ce qui donne 3,5 d'azote 0/0 et 3 atomes de ce corps dans la molécule. Nous leur attribuons en outre la même nature que dans l'aspergilline.

Notre matière a été obtenue dans des conditions au moins aussi favorables que l'aspergilline. Le dosage des cendres nous a donné :

Pour 0,393 gr. de substance, 0,003 de cendres, soit 0,75 0/0 de cendres très peu colorées (1).

Les chiffres 2,3, 2,1, 2,4 sont absolument concordants avec ceux de nos précédentes opérations. Ils nous paraissent une preuve certaine de l'exactitude de nos dosages antérieurs. De plus, cette façon identique de se conduire sous l'action de l'acide chlorhydrique, du carbonate calcique et

(1) Nos matériaux étant épuisés, nous n'avons pu rechercher la composition centésimale de la substance.

de la soude, ne saurait être attribuée qu'à une parenté très étroite de cette nouvelle matière colorante avec celle des *Aspergillus*. La concordance des propriétés physiques et chimiques nous force aussi à placer ces corps dans une même catégorie de composés chimiques, dont l'aspergilline constitue le type.

CONCLUSIONS.

I. Il existe chez les *Aspergillus niger* et *fuliginosus*, ainsi que dans le *Polyporus sulphureus*, des matières colorantes azotées, dont l'aspergilline est le type.

II. Ces substances sont extrêmement voisines, sans qu'elles soient identiques. Il y a des différences d'aspect extérieur et de solubilité dans les agents dissolvants ordinaires.

III. Elles ont un caractère acide.

IV. D'après nos observations, elles sont des amides vraies.

V. L'aspergilline paraît renfermer des chaînons benzéniques jouant le rôle de phénols.

VI. L'aspergilline n'est pas une hématine. Elle ne renferme pas trace de fer, et son spectre n'a pas de bande caractéristique.

VII. L'aspergilline paraît se rattacher étroitement aux tannins.

VIII. Dans d'autres *Aspergillus* et dans le *Fusarium hordei*, nous avons trouvé des matières colorantes de caractère notablement différent. L'une d'elle possède plutôt le caractère basique.

TABLE DES MATIÈRES DU TOME XIII.

I.	Sur la graine et spécialement sur l'endosperme du <i>Ceratonia siliqua</i> . Étude critique et chimique, par H. MARLIÈRE	5
II.	La fécondation chez l' <i>Ascaris megalocephala</i> , par J. B. CARNOY et H. LEBRUN	61
III.	Les cinèses spermatogénétiques chez l' <i>Helix pomatia</i> , par ARTHUR BOLLES LEE	197
IV.	Recherches sur la fermentation ammoniacale due aux Mucédinées simples, par OSCAR SEMAL	285
V.	L'anatomie fine de la cellule nerveuse, par A. VAN GEHUCHTEN .	313
VI.	Nouvelles recherches sur les sécrétions gastriques, par le Docteur A. VERHAEGEN	391
VII.	Matières colorantes azotées chez des champignons, par R. VAN DEN DRIES.	413

MBL WHOI LIBRARY
WH 19TA C

